

dc\_209\_11

MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**A depresszió neuroplaszticitás teóriájának vizsgálata  
kísérleti állatokban, krónikus stressz paradigmák  
felhasználásával**

**Dr Czéh Boldizsár**



German Primate Center, Leibniz Institute for Primate Research  
Clinical Neurobiology Laboratory



MAX-PLANCK-GESellschaft

Max-Planck-Institute of Psychiatry  
Molecular Neurobiology

**Göttingen / München**

**2011**

## TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	2
2. CÉLKITŰZÉSEK	7
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	8
4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS	10
4.1. A krónikus stressz hatása a felnőttkori neurogenesisre a gyrus dentatus-ban	11
4.2. Prenatális stressz hatása a felnőttkori neurogenesisre főmlőseő hippokampuszában	11
4.3. Képes-e az antidepresszáns kezelés normalizálni a krónikus stressz a felnőttkori neurogenesisre gyakorolt gátló hatását?	12
4.4. Új típusú antidepresszáns kezelési stratégiák hatása a felnőttkori neurogenesisre	13
4.5. A stressz-indukálta hippokampális térfogat csökkenés sejt szintű mechanizmusai: Okoz-e a stressz neuron pusztulást?	15
4.6. Milyen egyéb sejt szintű mechanizmusok csökkentik a stressz kapcsán a hippokampusz térfogatát? Számolhatunk-e a glia sejtek vagy a kapillarizáció redukciójával?	17
4.7. A krónikus stressz funkcionális következményei:	
I. A CA3 piramis sejtek elektrofiziológiai tulajdonságai	19
4.8. A krónikus stressz funkcionális következményei:	
II: A GABAerg interneuronok működésére kifejtett hatás	20
4.9. A krónikus stressz funkcionális következményei:	
III: A kognitív funkciókra kifejtett hatás	25
4.10. Krónikus stressz indukálta sejt szintű reakciók a prefrontális kortexben	26
5. ÖSSZEFOGLALÁS, AZ EREDMÉNYEK JELENTŐSÉGE	28
6. IRODALOMJEGYZÉK	30
7. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK	36
8. PUBLIKÁCIÓS MUTATÓK	39
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	40

## 1. BEVEZETÉS

### 1.1. A depresszió neuroplaszticitás elmélete

A major depresszió (MD) egyike a leggyakoribb megbetegedéseknek. Egyes epidemiológiai felmérések szerint, életkori prevalenciája 16%, míg a 12 hónapos előfordulási gyakorisága 6.6% (Kessler et al., 2003). Bár a fent említett adatok az Amerikai Egyesült Államokból származnak, a depresszió az egész világon komoly egészségügyi problémát jelent, és súlyos terheket ró az egészségügyi és szociális szervezetekre. A WHO felmérése szerint a depresszió napjainkban a 4. helyen áll abban a sorban, amelyben a különböző megbetegedéseket a munkaképtelenséget okozó élet-évek szempontjából rangsorolták. A WHO előrejelzése szerint, 2020-ra, ugyanebben a rangsorban a depresszió már a második helyen fog szerepelni. Az MD egy potenciálisan életveszélyes megbetegedésnek tekintendő, mivel a depressziós betegek egy része (10-15%-a) öngyilkosságba menekül. Bizonyított az is, hogy a befejezett öngyilkosságok 50-70%-át kezeletlen vagy nem megfelelően kezelt depressziós állapotban követik el.

A depresszió kóroka mindmáig tisztázatlan. A depressziós epizódokat leggyakrabban valamilyen élethelyzeti stressz hatás váltja ki és a gyermekkorban elszenvedett bántalmazás, érzelmi elhanyagolás képezik a depresszió legjelentősebb rizikó faktorait (Kendler et al., 1999; Kessler, 1997; Heim and Nemeroff, 2001). A depresszió kialakulásában az említett stressz hatások gyakorisága, időtartama, az egyén genetikai háttere, az őt körülvevő szociális háló, illetve a saját küzdőképessége együttesen határozzák meg azt, hogy valakiben a betegség kifejlődik-e vagy sem.

A depresszió patofiziológiájának magyarázatával számos hipotézis próbálkozik. A közelmúlt mintegy 40 éve során Schildkraut (1965) monoamin teóriája volt a legáltalánosabban elfogadott. Ennek értelmében a szerotonin, az adrenalin / noradrenalin és a dopamin rendszerek működési zavarai felelősek a depresszió tüneteinekért. Időközben kiderült azonban, hogy ez az elképzelés finomításra szorul, mert a monoaminerg rendszerek neurotransmitter funkciói mellett egyéb sejtszintű és intracelluláris mechanizmusokkal is számolni kell (Manji et al., 2001; Nestler et al., 2002a; Fuchs et al., 2004b<sup>1</sup>; Castrén, 2005; Berton and Nestler, 2006; Krishnan and Nestler, 2008). Továbbá a közelmúltban elvégzett számos *in vivo* képalkotó vizsgálat nyilvánvalóvá tette, hogy depressziós betegekben különféle limbikus és egyéb agyi struktúrákat érintő szelekív, morfológiai és funkcionális elváltozások észlelhetők. Például a prefrontális és cinguláris kéreg metabolizmusa és térfogata csökken, valamint a betegség progressziójával párhuzamosan a hippocampusz mérete is kisebb lesz (Drevets et al., 1997; Manji et al., 2001; Price and Drevets, 2010). Poszt-mortem szövettani vizsgálatok e térfogatcsökkenések hátterében úgy az agykéregben, mint a limbikus rendszer több struktúrájában az ideg- és gliasejtszám csökkenését igazolták. Hangsúlyozandó azonban, hogy e finom neuroanatómiai elváltozások ellenére az MD nem tekinthető neurodegeneratív megbetegedésnek. E leletek ugyanakkor nyilvánvalóvá tették, hogy a depresszió patofiziológiájáról a korábban előterjesztett monoamin hipotézis nem képes a depresszió során fellépő idegrendszeri elváltozások kielégítő magyarázatára. Új teóriákra van szükség, és napjaink talán legtöbb figyelmet kapott elképzelése szerint, a MD hátterében a neuroplaszticitás zavara rejlik (Manji et al., 2001; Fuchs et al., 2004b; Castrén, 2005; Berton and Nestler, 2006; Pittenger and Duman, 2008; Krishnan and Nestler, 2008).

<sup>1</sup> Az értekezés alapjául szolgáló saját közleményekre való hivatkozásokat aláhúzással jelöltem.

## 1.2. Állatkísérletes modellek

Depressziós páciensek kísérleti vizsgálata etikai okokból nyilvánvalóan limitált, ezért olyan állatmodellekre van szükség, melyeket a betegség egyik vagy másik aspektusának vizsgálatára célzottan fejlesztettek ki. Ennek megfelelően a főbb szempontok: 1) új antidepresszáns gyógyszerek kifejlesztése, tesztelése, 2) olyan modellek, melyek a már létező antidepresszív hatású beavatkozások neurofarmakológiai mechanizmusainak feltárására alkalmasak és 3) új modellek létrehozása a depressziós betegség neurobiológiájának elemzése céljából (Cryan et al., 2002; Nestler et al., 2002b; Fuchs et al., 2005; Nestler and Hyman, 2010). Mára a kutatók egyetértenek abban, hogy egyetlen olyan állatkísérleti modell kifejlesztése, amely a fent felsorolt három szempont mindegyikére egyformán használható, valószínűleg lehetetlen vállalkozás. Ugyanis a mentális betegségek, így az MD is, komplex, a humán agyra specifikus működészavar, melyet egyszerűbb organizmusokban modellezni rendkívül nehéz, sőt esetenként lehetetlen feladat. Következésképp feltétlenül számolnunk kell az állatkísérleti modellek korlátaival úgy a betegség, mint a terápia szempontjából.

Klinikai vizsgálatok sora igazolja, hogy a depressziós epizódok kialakulásában a stressz az egyik legfontosabb kiváltó tényező (Kendler et al., 1999; Kessler, 1997; Pittenger and Duman, 2008). E klinikai megfigyelések következményeként számos olyan állatmodellt fejlesztettek ki, melyek mindegyike az állatok stresszelésén alapul és így próbál depresszió-szerű állapotot létrehozni (Willner, 1991; Nestler et al., 2002b). Számos különböző módszer létezik a kísérleti állatok stresszelésére, ezek közül különösen azok a krónikus stresszen alapuló paradigmák tűnnek hasznosnak, melyek egyszersmind alkalmasak a krónikus stressz hatására kialakuló központi idegrendszeri reakciók feltárására is (Willner, 1991; Nestler et al., 2002b; Fuchs and Flugge G, 2002; Fuchs et al., 2005; Rygula et al., 2008). Állatokban, csakúgy mint emberben, a depresszió-betegséghez hasonló állapot létrehozására a társkapcsolatok manipulálása a legalkalmasabb módszer, mert ez a legerősebb stressz faktor. Mára már elfogadott tény, hogy az ember életében a szociális környezet instabilitása, társkapcsolatainak megszakadása, társadalmi pozíciójának elvesztése a legerősebb stressz faktor, mely növeli az MD kialakulásának esélyeit (Brown, 1993). Ennek megfelelően azok az állatmodellek, melyek a szociális státusz manipulálásával, pl. mesterségesen létrehozott szociális instabilitás illetve alárendeltség létrehozásával stresszelik az állatokat, különösen alkalmasak a pszichopatológiai elváltozások realisztikus "feltérképezésére" (Mitchell and Redfern, 2005).

Munkacsoportunk, a Clinical Neurobiology Laboratory, German Primate Center (Göttingen) az elmúlt évek során számos kísérletben kifejlesztett és validált egy különleges depresszió állatmodellt, mely egy főemlősökkel rokon állatfaj, az Északi mókuscickány (*Tupaia belangeri*) krónikus pszichoszociális stresszhelyzetben („*social defeat*”) tartásán alapul. E modell alkalmasnak tűnik azon neurobiológiai, neuro-endokrin és magatartásbeli elváltozások vizsgálatára, melyek a stressz eredetű pszichés megbetegedések, mint pl. az MD gyakori velejárói (Fuchs and Flugge, 2002; Fuchs et al., 2004a, 2005).

### 1.3. Neurogenesis felnőtt állatokban

A neuron-tan egyik fő sarokpontja volt (és sokak számára maradt is), amit még Ramon y Cajal fektetett le, hogy az idegsejtek osztódással szaporodása a születéskor véget ér, utána a differenciálódással illetve a kapcsolatok kiépítésével jelzett érési folyamat zajlik. Eközben a neuronok számszerű csökkenése is megkezdődik, mely az élet végéig tart, vagyis agyunk az érlelődés során folyamatosan veszíti a neuronokat, de újak már nem képződnek. Azonban a kilencvenes évek második felétől e kérdéskörben jelentős szemléletbeli fordulat állt be, amely elsősorban az időközben kidolgozott új módszereknek volt köszönhető (Miller and Nowakowski, 1988; Gross, 2000). Ekkor egyre több olyan tanulmány látott napvilágot, melyek a funkcionálisan érett állatok, sőt főemlősök agyában, majd végül az emberi agyban is idegsejt újdonszerveződést demonstráltak (Gould et al., 1998, 1999a; Eriksson et al., 1998; Kornack and Rakic, 1999).

A felnőttkori neurogenesis (*adult neurogenesis*: AN) a kifejlődött agy plaszticitásának egy sajátos típusa. Fiatal, de már ivarérett rágcsálók hippocampusában szemcsesejtek ezrei születnek újonnan naponta (Cameron and McKay, 2001). Jelenleg évente több száz tudományos közlemény foglalkozik e témával, így az AN az idegtudományok egyik legdinamikusabban fejlődő területévé nőtte ki magát, amelyben azonban számos kérdés továbbra is hevesen vitatott. Nincs egyetértés például abban, hogy vajon neuron képződés csak az agy kitüntetett, neurogén zónáiban zajlik-e, vagy szinte minden régióban. Mára a felnőtt agy számos régiójában írtak le újszülött neuronokat, azonban e "felfedezéseket" mások, különböző módszertani problémákra hivatkozva, továbbra is erős szkepszissel fogadják (pl. Gould et al., 1999b; Kornack and Rakic, 2001; Rakic, 1985, 2002a,b; Bernier et al., 2002; Bhardwaj et al., 2006; Cameron and Dayer, 2008; Marlatt et al., 2011). Két olyan terület van a kifejlett agyban, ahol az AN egyértelműen bizonyított (emberben is), az egyik a hippocampus gyrus dentatus-a, a másik az agykamrák falát bélelő szubependimális (vagy szubventrikuláris) zóna (Eriksson et al., 1998; Curtis et al., 2007).

A gyrus dentatus-ban (GD) képződő új, még nem teljesen érett szemcsesejtekre jellemző, hogy bennük alacsonyabb küszöbű és robusztusabb LTP (*long term potentiation*) váltható ki, valamint az is, hogy túlélésükhöz bemenet-függő aktivitás szükséges (Schmidt-Hieber et al., 2004; Tashiro et al., 2006). Ismert ugyanis, hogy az új neuronok többsége (50-60%-a) spontán elpusztul, mivel nem tud beépülni a meglévő neuronhálózatba (Dayer et al., 2003; Kempermann et al., 2003). Patkányokban az AN jelentős mértékű (napi 9000 új szemcsesejttel számolnak, Cameron and McKay, 2001), míg primátákban ez a folyamat nagyságrendekkel kisebb mértékű (Kornack and Rakic, 1999). Előfordulásáról az érett humán agyszövetben nincsen megbízható kvantitatív adat, de feltehetően igen ritka esemény (Eriksson et al., 1998; Czeh and Lucassen, 2007).

Számos tanulmány bizonyítja, hogy az ingergazdag környezet, a fizikai aktivitás és a tanulási folyamatok stimulálóan hatnak az AN mértékére (Kempermann et al., 1997; Kempermann, 2006; Balu and Lucki, 2009; Lucassen et al., 2010). Mindmáig nem ismert, hogy a hippocampusban folyamatosan képződő neuronoknak mi lehet a pontos funkcionális szerepe. Mivel a hippocampus kitüntetett szerepet játszik a tanulás mechanizmusában, ezen belül elsősorban az epizódikus-deklaratív memória konszolidáció folyamatában, így nem meglepő, hogy sok tanulmány igyekszik bizonyítani az AN szerepét e kognitív funkciókban (Imayoshi et al., 2008; Dupret et al., 2007, 2008; Balu and Lucki, 2009; Coras et al., 2010; Deng et al., 2010; Sahay et al., 2011).

Az AN feltehetően nem csak fiziológiai folyamatokban játszik szerepet, hanem, ahogy azt sokan feltételezik, különböző patofiziológiai mechanizmusokban is részt vehet (Balu and Lucki, 2009). Az AN kulcsszerepét számos neuro-pszichiátriai

megbetegedésben felvetették és az elmúlt évek egyik legtöbbet vitatott és kutatott elmélete szerint az AN csökkenése szerepet játszhat az MD kialakulásában (Jacobs et al., 2000; Duman, 2004; Dranovsky and Hen, 2006; Sahay and Hen, 2007; Kempermann et al., 2008; Balu and Lucki, 2009; Lucassen et al., 2010; Lucassen et al., 2010). Felmerült az is, hogy az effektív antidepresszáns kezelés talán az AN stimulálásán keresztül hat (Malberg et al., 2000; Czéh et al., 2001; Santarelli et al., 2003; Dranovsky and Hen, 2006; Sahay and Hen, 2007; Kempermann et al., 2008; Boldrini et al., 2009; Krishnan and Nestler, 2010; Lucassen et al., 2010; Perera et al., 2011). E feltevés sarokpontjai a következők: 1) Környezeti stressz hatására kísérleti állatok hippocampuszában az AN csökken, és ugyanilyen stressz emberben a depresszió legfőbb rizikó faktora; 2) Depressziós betegekben gyakori a kognitív deficit mely többnyire a hippocampusz térfogatának csökkenésével jár együtt (és ez talán a redukált neuron képződés következménye); 3) Antidepresszáns kezelés serkenti az AN jelenségét és blokkolni képes a stressz ezen folyamatra kifejtett gátló hatását; 4) Az effektív antidepresszáns kezeléshez legalább 3-4 héten át tartó kezelés szükséges, és az újszülött neuronoknak épp ennyi időre van szükségük a funkcionális beéréshez; 5) Állatkísérletes adatok bizonyítják, hogy az AN blokkolásával az antidepresszáns kezelés magatartásfiziológiai hatását is gátolni lehet.

Nyilvánvaló azonban az is, hogy a depressziós tünetekért több agyi struktúra együttes működési zavara felelős, így a hippocampuszon kívül egyéb agyterületek is szerepet játszanak az MD patogenezisében (pl. a prefrontális kéreg, cinguláris areák, amygdala, talamikus, hypothalamikus és egyéb agytörzsi magok). Mivel az MD nem köthető kizárólagosan a hippocampusz elváltozásaihoz, ezért – számunkra legalábbis – nyilvánvaló, hogy az AN hiánya nem lehet a depresszió összes szimptomájának egyetlen közös oka. Ugyanakkor a csökkent AN szerepelhet egyes szimptomák okai között. Például a depressziós betegek jellemző azon deficiteiben, melyek hátterében a hippocampusz hiányos információ feldolgozása áll. Egy másik deficit ama képesség elvesztése, mely a betegek számára új és bonyolult helyzetek megfelelő kezeléséhez szükséges.

Összegezve elmondhatjuk, hogy az MD etiológiájában ma még nincsen egyértelműen meggyőző klinikai adat a csökkent AN kritikus szerepéről. Ugyanakkor lehetséges, hogy bár a csökkent AN a klinikai depresszió kifejlődésében nem esszenciális, de az AN stimulálására mégis szükség van a terápiásan hatékony antidepresszáns kezeléshez. Következésképpen az AN stimulálása ígéretes stratégia lehet új típusú antidepresszáns gyógyszerek kifejlesztésében.

#### **1.4. Krónikus stressz hatása a limbikus rendszer strukturális plaszticitására**

Mára már elfogadott tény, hogy a krónikus stressz számos betegség kialakulásában fontos szerepet játszik. Ismert az is, hogy bizonyos agyi struktúrák – különösen a limbikus rendszer – nemcsak irányítják az egész szervezet stressz reakcióit, de hosszú távon meg is szenvedik azok következményeit (Fuchs et al., 2006; McEwen, 2007; Joëls et al., 2007; Joëls and Baram 2009; Lupien et al., 2009).

A stressz-kutatás fordulópontja volt az a felfedezés, melyben fény derült a glukokortikoid receptorok expressziójára szerte az agyban, különösen a hippocampuszban (de Kloet et al., 1975). Azóta számos vizsgálat bizonyította, hogy a stressz hatására megemelkedett glukokortikoid szint befolyásolja a hippocampusz működését és struktúráját (McEwen, 2007; Fuchs et al., 2004b, 2006; Joëls et al., 2007; Lupien et al., 2009). Funkcionálisan, a krónikus stressz hatására romlik a hippocampusz ingerlékenysége, az LTP és a memória is. A krónikus stressz morfológiai hatásai közé

tartozik a hippocampusz összterfogatának csökkenése, valamint olyan sejtszintű elváltozások, mint a dendritfa átalakulása vagy a redukált AN.

A hippocampusz térfogatának csökkenése az egyik legmeggyőzőbben dokumentált klinikai megfigyelés azon betegség csoportokban, melyek háttérében súlyos vagy krónikus stressz hatás áll, vagy arteficiálisan magas a plazma glukokortikoid szintje: így depressziós betegekben, PTSD-ben (*post-traumatic stress disorder*), Cushing szindrómában, idős emberekben, valamint szintetikus glukokortikoidokkal való kezelés következményeként (Starkman et al., 1992; Lupien et al., 1998; Sapolsky, 2000; Sheline, 2000; Campbell et al., 2004; Videbech and Ravnkilde, 2004; Bremner, 2007; Gianaros et al., 2007). De az mindmáig nem ismert, hogy pontosan milyen sejtszintű elváltozás(ok) állhat(nak) e térfogat csökkenés háttérében (Czéh and Lucassen, 2007). A '80-as években született nagyhatású tanulmányokat követően általánossá vált az az elképzelés, hogy a hippocampusz stressz okozta zsugorodásának háttérében a neuronok pusztulása áll, mely különösen a CA3 és CA1 régiókat érinti (Sapolsky et al., 1990; Sapolsky, 2000). Ezt az elképzelést azonban később, precízebb sejtszámolási eljárásokkal, nem sikerült igazolni. Bár több klinikai és állatkísérletes tanulmány vizsgálta, mégsem sikerült masszív neuron pusztulásra utaló jeleket találni sem krónikus stressz, sem tartós szintetikus glukokortikoid kezelés után, sem pedig depressziós betegek agyában (Vollmann-Honsdorf et al., 1997; Sousa et al., 1998; Leverenz et al., 1999; Lucassen et al., 2001, 2004, 2006; Müller et al., 2001; Stockmeier et al., 2004; Czéh and Lucassen, 2007). Vagyis a térfogatcsökkenésben egyéb celluláris tényezőknek kell szerepet játszania, ilyenek lehetnek például a dendritfa átrendeződése, a csökkent AN, a glia sejtek pusztulása, vagy például a hippocampusz folyadék háztartásában fellépő változások (Czéh and Lucassen, 2007).

A stressz egyike azon környezeti hatásoknak, melyek erőteljesen gátolják az AN mértékét (Czéh et al., 2001, 2002; Balu and Lucki, 2009; Lucassen et al., 2010; Schoenfeld and Gould, 2011). Ezt több spécieszben és különféle stressz paradigmák alkalmazásával szerzett egyértelmű eredmények bizonyítják. Mind az akut, mind pedig a krónikus stressz gátolja az AN mértékét, de csak a hippocampuszban, míg a másik neurogén zónában, a szubventrikuláris rétegben nem okoz ilyen változást. A stressz úgy tűnik az AN minden lényeges fázisát, azaz mind a proliferációt mind pedig a neuron érést, illetve az újonnan képződött neuronok életben maradását is gátolja.

A legmeggyőzőbben dokumentált stressz-keltette struktúrális elváltozás az apikális dendritfa zsugorodása és reorganizációja, melyhez a dendritikus tüskék és a szinapszisok számának csökkenése, valamint a posztzinaptikus denzitás módosulása társul (McEwen, 2000; Fuchs et al., 2006). A stressz ezen hatásai kísérleti körülmények között mesterségesen magas glukokortikoid szinttel jól reprodukálhatók. A dendritfának eme zsugorodása illetve a szinaptikus kapcsolatok csökkenésének feltehető magyarázata az, hogy a neuronok így próbálnak védekezni a magas glutamát szint már toxikus hatásaival szemben (McEwen, 2000; Conrad, 2006). E sejt-morfológiai változások feltehetően közreműködnek a krónikus stressz okozta kognitív zavarokban (McEwen, 2000; Conrad, 2006). A piramis sejtek dendritfájának morfológiai elváltozása egy másik funkcionális következményt is okozhat. Ez esetben a hippocampusznak a HPA-tengely szabályozásában játszott szerepe olyan zavart szenved, mely azután szintén kórosan és tartósan magas glukokortikoid szintekhez vezet (McEwen, 2000; Conrad, 2006).

## 2. CÉLKITŰZÉSEK

Kísérleteinkben a következő kérdésekre kerestük a választ:

2.1. Hogyan hat a krónikus stressz a hippocampusz gyrus dentatus-ában zajló felnőttkori neurogenesisre?

2.2. Vajon az élet korai szakaszában – például prenatálisan – alkalmazott stressznek vannak-e hosszú távú következményei a főemlősökben (részben majmokban) észlelt felnőttkori neurogenesisre illetve a hippocampusz térfogatára?

2.3. Képes-e az antidepresszáns kezelés kivédeni a stressz felnőttkori neurogenesis gátló hatását? Vajon a felnőttkori neurogenesis kísérleti állatokban végzett vizsgálata alkalmas módszer-e új típusú, potenciálisan antidepresszív hatású terápiás eljárások hatékonyságának ellenőrzésére?

2.4. Befolyásolhatja-e a kísérleti állatok krónikus stresszelése, illetve antidepresszáns kezelése a hippocampusz térfogatát illetve a neuronok pusztulását (apoptózis)?

2.5. Milyen egyéb olyan celluláris reakciókat okoz az a krónikus stressz a hippocampuszban, amely a CA3 piramis sejtek apikális dendritjének sorvadását okozza? Kimutatható-e változás az interneuronok és az asztroglia sejtek számában illetve a lokális mikrokeringésben?

2.6. Melyek a krónikus pszichoszociális stressz funkcionális következményei a hippocampuszban? Változnak-e olyan, a hippocampuszhoz köthető kognitív funkciók, mint pl. a tér tájékozódás? Észlelhető vagy sem a CA3 piramis sejtek – melyekről jól ismert, hogy különösen érzékenyen reagálnak a stressz hatásokra – elektrofiziológiai tulajdonságainak módosulása? Vajon a gátló interneuronok működését hogyan befolyásolja a krónikus stressz?

2.7. Vajon a krónikus stressz a hippocampuszban megfigyelhető sejtszintű reakciókat vált-e ki más limbikus struktúrákban, például a prefrontális kortexben is?



### 3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

#### 3.1. A kísérletekben használt állatok

Kísérleteinkhez felnőtt, hím patkányokat, mókuscickányokat (*Tupaia belangeri*) és rézus majmokat (*Macaca mulatta*) használtunk.

#### 3.2. Az állatok krónikus stresszelésére használt paradigmák

Mókuscickányok krónikus pszichoszociális stresszelése és antidepresszáns kezelése: Az állatokat négy csoportra osztottuk: Kontroll, Kontroll + Antidepresszáns kezelés, Stressz, Stressz + Antidepresszáns kezelés. Az első hét napon az állatok zavartalan körülmények között észlelhető fiziológiai alapadatait gyűjtöttük. A második 7 napos fázisban az állatok két csoportját (Stressz és Stressz + Antidepresszáns kezelés) naponta pszichoszociális stressznek tettük ki. A stressz ebben az esetben azt jelentette, hogy a kísérleti állatoknak naponta el kellett viselnie egy domináns fajtárs agresszióját (*social defeat*). A kísérlet harmadik időszakában 28 napon át az alárendelt (kísérleti) állatok egy része, orális antidepresszáns kezelést kapott (Stressz + Antidepresszáns kezelés), miközben a naponta ismétlődő stressz helyzetben továbbra is résztvett. A másik két csoport (Kontroll, és Kontroll + Antidepresszáns kezelés) állatai ugyanezen időszakra zavartalanul, egyedi ketrecekben maradtak, illetve a kísérlet utolsó időszakában 28 napon át az állatok egy része, orális antidepresszáns kezelést kapott (Kontroll + Antidepresszáns kezelés).

Krónikus mozgás-gátlás (*restraint*) stressz: felnőtt, hím patkányokat használtunk. Az állatokat fordított megvilágítási ciklusokban (vagyis reggel 7 és este 7 óra között sötétben) tartottuk. A Stressz csoport állatainak mozgását 21 napon keresztül reggel 8 és délután 2 óra között (tehát sötét időszakban, az állatok aktív periódusában) 6 órán keresztül csaknem teljesen gátoltuk.

Krónikus pre-natális stressz: Ebben a kísérletben rézus majmokat használtunk. A kontroll csoport egyedeit zavartalan terhességből származó utódokból válogattuk. Ezeket hasonlítottuk olyan egyedekhez, melyek anyját a 24 hetes gesztációs periódus korai vagy késői szakaszában 6 héten át stresszeltünk. A korai stressz periódus a megtermékenyítés utáni 50. napon kezdődött és a 92. napig tartott. A késői stressz periódus a 105-147. napok közötti időszakra esett. Ez a két időszak a majom-agykéreg sejtfelődése és szinaptogenezeise szempontjából egymástól jelentősen eltér. A kísérleti csoportokba sorolt terhes nőstény majmokat a hetente 5 napon keresztül stresszeltük. Ez abból állt, hogy hétfőtől péntekig naponta átvittük őket egy sötét szobába, délután 14:30-16:00 óra között. Itt 10 percig maradtak a szállító ketrecükben, majd pedig egy váratlanul felcsattanó erős hang (autókürt) ijesztette meg őket háromszor. Egy standard protokoll szerint három, egyenként 1 másodpercig tartó 110 dB erősségű kúrhangot alkalmaztunk, melyek között random 1-4 perces időintervallum telt el. A kísérlet megkezdése előtt már tisztáztuk, hogy ez a paradigma szignifikánsan növeli a terhes anyák vérében a kortizol szintet. A 6 hetes stresszelést megelőző, és az azt követő időszakokban a terhes majmok zavartalanul éltek saját ketrecükben, amíg magzataikat természetes úton megszülték majd nevelték.

#### 3.3. Bromo-deoxiuridin injekció és immunocytokémia

Ezt a módszert az újonnan képződött neuronok kimutatására használtuk (Czéh et al., 2001, 2002, 2005a, 2007). Az osztódásban lévő neuronok megjelölésére az állatok 5-bromo-2'-deoxiuridine (BrdU) injekciót kaptak intraperitoneálisan. A BrdU a sejtosztódás S fázisa során beépül az újonnan szintetizálódó DNS szálba, és ez a beépült BrdU később,

immunohisztokémiai eljárással kimutatható. A BrdU jelölés előnye, hogy a jelölt sejtek száma könnyen meghatározható, továbbá identitásuk (idegsejt vagy glia) kettős jelölési módszerrel viszonylag könnyen ellenőrizhető. A BrdU-pozitív sejtek identitását meghatározandó primér antitestek a következők voltak: az idegsejteket NeuN, a gliát GFAP vagy NG2 antitestekkel azonosítottuk. Az endothél sejtek felismerésére RECA-1 antitestet használtunk.

### 3.4. In Situ End Labeling (ISEL) és a Fluoro-Jade (FJ) festés

Ezt a két módszert a pusztuló neuronok kimutatására használtuk. Kísérleteinkben az apoptózis kimutatására az úgynevezett *in situ end labelling* (ISEL) technikát alkalmaztuk (Lucassen et al., 2001, 2004). Mivel az ISEL technika semmilyen információt sem nyújt arra vonatkozóan, hogy a pusztuló sejtek neuronok avagy más fenotípusú sejtek, ezért fontos legalább annak a felderítése, hogy az apoptotikus egyedek többsége eredetileg glia avagy idegsejt volt vagy sem. Erre a célra az ISEL leletek mellé az úgynevezett Fluoro-Jade (FJ) sejt-degenerációs markerrel próbáltuk meghatározni az apoptotikus sejtek eredeti fenotípusát (Lucassen et al., 2004). A Fluoro-Jade B a degenerálódó neuronokat mutatja ki, viszont más sejtípust nem jelöl, így segítséget nyújt a degenerálódó sejtek fenotípusának meghatározásában.

### 3.5. In vitro elektrofiziológiai módszerek

Egyfelől felnőtt, hím mókuscickányok hippocampusz szelet preparátumaiban a “*whole-cell current-clamp*” módszerrel vizsgáltuk a CA3 piramis sejtek elektrofiziológiai tulajdonságait, majd az elvezetéseket utólagos biocytin jelölés és részletes morfometriai feldolgozás követte (Kole et al., 2004). Másfelől a krónikus stressznek a GABAerg transzmisszióra kifejtett hatását a CA1 area piramis sejtjeiből történő *whole cell patch-clamp* elvezetéssel tanulmányoztuk (Hu et al., 2010).

### 3.6. NMR-spektroszkópia (*proton magnetic resonance spectroscopy*, NMRS)

A krónikus stressz kísérletek utolsó napján a mókuscickányok a fontosabb agyi metabolitok *in vivo* koncentrációjának meghatározása céljából képelemzéssel társult lokalizált NMRS vizsgálaton estek át (Czeh et al., 2001, 2005a; van der Hart et al., 2002)

### 3.7. A stresszelt állatok kognitív funkcióját vizsgáló magatartási tesztek

A stresszelt mókuscickányok hippocampális funkcióit egy speciális téri-tanulási – memória tesztben vizsgáltuk. Ebben a tesztben az állatoknak egy fedett üregekkel rendelkező táblán (*holeboard*) különböző térbeli rendszerben elrejtett ételdarabokat kellett megtalálniuk (Bartolomucci et al., 2002).

## 4. EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

### 4.1. A krónikus stressz hatása a felnőttkori neurogenesisre a gyrus dentatus-ban

1999-ben egy olyan göttingeni laboratórium munkájába volt alkalmam bekapcsolódni, amely akkor az elsők között kezdte aktívan kutatni a felnőttkori hippocampális neurogenesis (AN) a depressziós hangulatzavarok etiológiájában játszott lehetséges szerepét. Amikor mi az itt bemutatásra kerülő kísérleteket elkezdtük, még csak néhány adat létezett arra vonatkozóan, hogy a stressz befolyásolja az AN-t (Gould et al., 1997, 1998). Ezek a tanulmányok akut stressz helyzeteket vizsgáltak, ismert azonban, hogy az állatok többnyire jól alkalmazkodnak a környezeti változásokhoz, ezért számos stressz következtében kialakuló fiziológiai elváltozás spontán visszarendeződik. Ezért is fontos kivizsgálni, vajon a krónikus stressz befolyásolja-e vagy sem az AN mértékét. Továbbá ismert, hogy a krónikus stressz különféle neuropszichiátriai megbetegedések kialakulását idézheti elő, mely megbetegedések hátterében megváltozott mértékű AN-t feltételeznek.

Elsőként az irodalomban, mi egy krónikus (több hetes) stressz paradigmát használtunk, amely a szociális rangsorban elszenvedett veszteségen, „alárendelődésen” (*social defeat*) alapszik, és azt vizsgáltuk, hogyan hat ez az AN különböző aspektusaira. Kísérletünkben értékeltünk több olyan fiziológiai mutatót is, melyek a stressz indikátorai, hiszen azt is bizonyítani kell, hogy az állatok valóban állandó stressz helyzetben éltek (Czeh et al., 2001, 2002). Az AN egy több lépésből álló, összetett folyamat, mely a sejtek osztódásával kezdődik, amit azután az újszülött sejtek érési és differenciálódási szakasza követ. Célunk annak tisztázása volt, hogy a krónikus stressz mennyiben változtatja meg a sejtproliferációt majd pedig az újszülött sejtek túlélési esélyeit. Az újszülött sejteket BrdU-val jelöltük, és a különböző BrdU adagolási protokollokkal elkülöníthető a stressznek a sejt-proliferációra, illetve az újszülött sejtek túlélésére kifejtett hatása. Így a kontroll patkányok gyrus dentatus-ában 2500-2700 frissen képződött sejtet számoltunk (*proliferation rate*), míg a „túlélési állatcsoportokban” a BrdU-pozitív sejtek száma 2800-3000 volt (*survival rate*).

Hogy a tartós stressznek kitett állatok ezt valóban folyamatos fenyegetettségnek élték át azt az bizonyítja, hogy a kísérlet végén is megemelkedett kortikoszteron (+94%) és ACTH (+97%) koncentrációt mértünk a vérükben, vagyis az állatokban a HPA-tengely tartósan aktíválódott (Czeh et al., 2002). A naponta ismételt pszichoszociális stressz mintegy 30 százalékkal csökkentette a szemcsejtek proliferációját, és hasonló mértékben redukálódott az újonnan született sejtek túlélési aránya is. Az újszülött sejtek identitás vizsgálata kimutatta, hogy a BrdU-pozitív sejtek ~70 százalékából idegsejt fejlődött, míg nagyjából 20 százalékukból asztrocita lett. A maradék 10 százalék identitását nem sikerült meghatároznunk. Ezt a glia:neuron arányt a krónikus stressz nem befolyásolta.

Hasonló eredményeket kaptunk egy másik kísérletben is, ahol mókuscickányokat stresszeltünk krónikusan, szintén a pszichoszociális stressz paradigmában (Czeh et al., 2001). Továbbá, érdekes módon úgy tűnik, az életkor előrehaladtával az idősebb állatok érzékenyebben reagálnak a stressz hatásra, legalábbis bennük stressz után jobban csökken a sejt proliferáció (Simon et al., 2005).

Ezekkel az adatokkal elsőként számoltunk be a krónikus stressznek a hippocampusban zajló felnőttkori neurogenesisre gyakorolt hatásáról. Eredményeinket azóta számos más munkacsoport, különböző állatfajban, különböző krónikus stressz paradigmát alkalmazva sikeresen reprodukálta.

#### 4.2. Prenatális stressz hatása a felnőttkori neurogenesisre főemlősök hippocampusában

Nagyszámú preklinikai tanulmány bizonyítja, hogy még a relative enyhe prenatális inzultusok is, melyek nem vezetnek koraszüléshez, vagyis sem a terhesség időtartamát, sem a főtusz fejlődését durván nem befolyásolják, képesek az utód agyának biokémiáját, neuro-endokrin funkcióit, emocionális életét és tanulási képességeit negatív irányban változtatni (Weinstock, 2008). Ezek a tanulmányok arra utalnak, hogy a magzat számára, az anyaméh nem jelent tökéletes védelmet, és nem marad érintetlenül a várandós anya stressznek kitett életmódjának következményeitől. Retrospektív tanulmányok adatai szerint az anyát a terhesség alatt érő stressz következményeként gyakoribbak a koraszülések, és a korukhoz képest kis testsúllyal született újszülöttek (Hedegaard et al., 1993). Ráadásul, az ilyen terhességből származó utódok fizikai és/vagy pszichikai fejlődése is zavart szenved (Jones and Tauscher, 1978; Meijer, 1985). Régóta gyanítják, hogy a súlyos stressznek kitett terhes anyák utódai között gyakoribb a szkizofrénia és az affektív zavarok is (van Os and Selten, 1998; Brown et al., 2000).

Azt kívántuk tisztázni, hogy vajon főemlősökben a prenatális stressznek vannak-e hosszú távú következményei az AN-re vonatkozóan, vagy sem. Ennek tisztázása azért fontos, mert ha ilyen hatást észlelünk majmokban, akkor nagyon valószínű, hogy ezek a kóros folyamatok emberben is hasonlóképp játszódnak le. Kísérletünkben terhes rézusz majmokat stresszeltünk és vizsgáltuk az utódok pszicho-motoros fejlődését, a HPA-tengely aktivitását, valamint a hippocampusz térfogatát és az AN mértékét. Kísérletünkben három állatcsoport volt: egy kontroll, amely zavartalan terhességből származó utódokból állt, és két prenatálisan stresszelt majmokból szervezett csoport, ahol az anyákat vagy a terhességük korai vagy pedig késői időszakában, 6 héten át stresszeltünk. Az utódokat 2-2.5 éves korukban vizsgáltuk, ez rézusz majmok esetében a pubertás előtti életszakasznak felel meg.

Magatartási vizsgálataink eredményei szerint a stresszelt terhességből származó utódok pszicho-motoros fejlődése zavart volt, mivel ezek az állatok ritkábban végeztek fókuszált figyelmet követelő tevékenységet és viselkedésük gyakrabban volt céltalan, mint a kontroll terhességből származó utódoké (Coe et al., 2003).

A HPA-tengely aktivitását elemezve azt találtuk, hogy mind a korai mind a késői magzati életkorban elszenvedett inzultus után született állatokban magasabb volt a kortizol szint (Coe et al., 2003). Ez a tünet két lehetséges okra vezethető vissza. Egyik a magasabb bazális hormonszint reggel, amikor a tesztet csináltuk, a másik az, hogy talán a vérvétellel járó manipuláció okozott fokozottabb stressz-reakciót ezekben az utódokban. Vizsgáltuk azt is, hogy ezek az állatok hogyan reagálnak DEX (dexamethasone) adására (DEX-szuppressziós-teszt). Közismert, hogy DEX adása, normális esetben negatív-feedback útján gátolja a HPA-tengely aktivitását. Tizenkét órával a DEX beadása után mind a korai mind a késői terhességi korban stresszelt anyáktól származó utódokban a kortizol szint szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll majmokban. Másszóval a DEX-indukálta negatív-feedback nem működött megfelelően. Ezek az adatok jelzik, hogy a prenatálisan stresszelt állatokban az HPA-tengely működése kóros.

A poszt-mortem szövettani analízis eredményei szerint a hippocampusz gyrus dentatus-ában a BrdU-jelölt (újszülött) sejtek száma ~30%-os csökkenést mutatott, mind a korai, mind a késői magzati periódusban stresszelt állatokban (Coe et al., 2003). A korai és késői terhességi időszakban stresszelt majmok utódai között ebből a szempontból nem volt szignifikáns különbség. Mi több, szignifikáns korrelációt figyeltünk meg a DEX után mért plazma kortizol szint és a GD-ban talált BrdU-pozitív sejtek száma között.

A kettős immunofluoreszcens jelölés adatai szerint, a kontroll majmokban származó mintákban a BrdU-jelölt sejtek 80%-a jelölődött NeuN-nel is, vagyis ennyiből lett neuron. A prenatálisan stresszelt állatokban ez az arány azonos volt a kontroll értékekkel: korai stressz: 82% késői stressz: 87%. Vagyis a prenatális stressz azon nem változtatott, hogy az újonnan képződött sejtek hány százalékából lesz neuron.

A poszt-mortem szövettani analízis a hippocampusz térfogatának meghatározására is kiterjedt. A prenatálisan stresszelt állatokban a hippocampusz térfogata szignifikánsan kisebb, és ez a csökkenés is független volt attól, hogy az állatokat mikor stresszeltük.

#### **4.3. Képes-e az antidepresszáns kezelés normalizálni a krónikus stressz a felnőttkori neurogenesisre gyakorolt gátló hatását?**

Egy évtizeddel ezelőtt, amikor mi ezeket a kísérleteket elkezdtük már ismert volt, hogy több különböző típusú antidepresszáns kezelés, mint például az antidepresszív hatású gyógyszerek, de az elektrokonvulzív terápia, és a lithium is, serkentik a gyrus dentatus-ban zajló neurogenesis (Chen et al., 2000; Madsen et al., 2000; Malberg et al., 2000; Scott et al., 2000). Említésre méltó, hogy ezeknek a terápiás beavatkozásoknak jótékony hatását csak krónikus kezelés után észlelték, akut kezelés hatástalannak bizonyult (Malberg et al., 2000). Ezekben a korai tanulmányokban az antidepresszánsok AN-re gyakorolt hatását csak egészséges (normál) állatokban vizsgálták, holott a klinikai gyakorlatban az antidepresszánsokat affektív zavarokban szenvedő pácienseknek adják. A depresszió neurobiológiájának felderítéséhez tehát a valóságos (klinikai) helyzetet jobban megközelítő állatkísérletek szükségesek. Ezt az igényt úgy próbáltuk kielégíteni, hogy olyan állatokat kezeltünk antidepresszívumokkal, amelyek közben egy krónikus pszichoszociális stressz (*social defeat stress*) paradigmában is résztvesznek. Úgy véltük, hogy a klinikai szituációt legjobban úgy közelítjük meg, hogy ha az antidepresszáns kezelést csak a stressz-indukálta változások kialakulása után kezdjük. Ezért az állatok stresszelése egy héttel korábban kezdődött, mint a gyógyszeres terápia. Első kísérletünkben (Czeh et al., 2001) antidepresszánsként tianeptint használtunk, mely ismeret módon megelőzi, illetve blokkolja a hippocampuszban leírt stressz-indukálta morfológiai elváltozásokat (McEwen et al., 2010). A tianeptin kezelést 4 héten át orálisan alkalmaztuk, miközben az pszichoszociális stresszt folyamatosan fenntartottuk. A kísérlet végén NMR-spektroszkópiával (NMRS) megmértük az agyi metabolitok koncentrációját *in vivo*. Ezenkívül poszt-mortem megmértük a hippocampusz volumenét és a sejtproliferáció mértékét a GD-ban.

Az 5 héten keresztül tartó, krónikus pszichoszociális stressz szignifikánsan csökkentette a BrdU-pozitív sejtek számát a GD-ban. Azokban az állatokban viszont, amelyek a stressz mellett négy hetes tianeptin kezelésben is részesültek, a GD BrdU-pozitív szemcsesejteinek száma a kontroll értékkel azonos maradt és szignifikánsan több volt, mint a stresszelt állatokban. Eszerint az AN krónikus stressz esetén jelentősen csökken a GD-ban, de ezt a csökkenést antidepresszáns kezeléssel ki lehet védeni. Ugyanakkor a tianeptin kezelés kontroll (nem stresszelt) állatokban lényegében hatástalan maradt. Korábbi kísérletekből tudjuk, hogy szubordináns mókuscickányok akut pszichoszociális stresszelése is drasztikusan csökkenti az AN-t. Mivel saját kísérleteinkben az állatokat a tianeptin kezelés megkezdése előtt már egy hétig naponta stresszeltük, ezért nagyon valószínű, hogy a sejtproliferáció mértéke a stressz miatt eleinte csökkent, majd a 28 napos antidepresszáns kezelés eredményeként visszarendeződött.

Ugyanebben a kísérletsorozatban igazoltuk azt is, hogy az agyi metabolitok stressz-indukálta változását tianeptin kezeléssel szintén normalizálni lehet. A kísérlet utolsó napjaiban NMR-spektroszkópiás méréssel több agyi metabolit értékét meghatároztuk. A mért metabolitok a következők voltak: 1) a neuro-axonális *N*-acetyl-aszpartát (NAA) marker, amely csak a neuronokban található, ennél fogva jól jelzi azok élet- és funkcióképességét; 2) kreatin és foszfokreatin (Cr), melyek fontos energia metabolitok markerei; 3) kolin-tartalmú (Cho) komponensek, melyek a sejtmembránok képződésének illetve degradációjának jelző anyagai, mint például a (glycero)-phosphocholine; 4) és egy glia sejt marker a *myo*-inositol (Ins). A kontrol csoporthoz képest a stresszelt állatokban csökkent az NAA, Cr, valamint a Cho komponensek szintjei, míg az Ins koncentráció változatlan maradt. A stresszelt állatok tianeptin kezelése normális agyi metabolit koncentrációkat eredményezett. Antidepresszáns kezelés önmagában nem változtatta meg a mért agyi metabolitok szintjét. Konklúzióink szerint tianeptin kezelés alkalmas arra, hogy a pszichoszociális stressz kapcsán megváltozott agyi metabolizmust helyreállítsa.

Azt is demonstráltuk, hogy tianeptin kezeléssel megakadályozható a hippocampusz stressz-indukálta volumen-csökkenése. Poszt-mortem meghatároztuk a krónikus stressznek a hippocampusz térfogatára gyakorolt hatását. Az 5 hétig tartó stressz egy nem szignifikáns, 7%-os térfogat csökkenést eredményezett. Ezzel szemben a tianeptin-kezelt krónikusan stresszelt állatokban a hippocampusz volumene szignifikánsan nagyobb volt, mint a stresszelt, de tianeptinnel nem kezelt egyedekben. Ez a lelet arra utal, hogy az antidepresszáns kezelés megelőzheti illetve kivédheti a hippocampusz volumenének csökkenését.

Végül azt vizsgáltuk, hogy a stressz-indukálta sejtproliferáció csökkenés vajon oly mértékű-e, hogy az a szemcsesejt rétegének volumen csökkenéséhez is vezet, és ezáltal az AN csökkenése hozzájárul-e a hippocampusz egészének volumen csökkenéséhez. Meglepetésünkre, a szemcsesejt réteg térfogatát változatlanak találtuk. Ebből arra következtettünk, hogy a csökkent AN a gyrus dentatus-ban nem lehet a hippocampusz volumen csökkenésének közvetlen oka.

#### 4.4. Új típusú antidepresszáns kezelési stratégiák hatása a felnőttkori neurogenesisre

Ez az alfejezet azt a kérdést vizsgálja, hogy azok a terápiás beavatkozások, melyek potenciálisan új antidepresszáns kezelést jelenthetnek, vajon hasonlóképp stimulálják-e az AN-t, mint a hagyományos antidepresszív hatású gyógyszerek. Tettük ezt azért, mert egyrészt felvetődött az az elképzelés, hogy az AN vizsgálata új, még fejlesztés alatt álló antidepresszívumok tesztelésére, validálására alkalmas módszer lehet a gyógyszerkutatásban, másrészt specifikusan az AN stimulálására kifejlesztett szerek egy merőben új típusú gyógyszeresaládot képviselhetnének a neuropszichiátriában (DeCarolis and Eisch, 2010). Szerencsés esetben ezek az új szerek antidepresszív, illetve kognitív funkciókat javító hatással is bírnának.

Két, új típusú kezelési stratégiát teszteltünk. Egyik egy fizikai terápiás beavatkozás, a transzkraniális magnetikus stimuláció (TMS), a másik pedig egy a neurokinin-1 receptor antagonisták családjába tartozó vegyület kipróbálása volt. Fel akartuk deríteni, hogy lehet-e vagy sem ezekkel a kísérleti fázisban lévő terápiás eljárásokkal ellensúlyozni a stressz AN-re gyakorolt gátló hatását.

#### 4.4.1. Transzkraniális magnetikus stimuláció (TMS)

A TMS egy fizikai eljárás, mely az elektrokonvulzív terápia lehetséges non-invazív alternatívája (George, 2010). Ennek az eljárásnak sok előnye van, mert a TMS biztonságos, non-invazív, fokális agyi ingerlésre alapozott beavatkozás, mely nem okoz epilepsziás görcsöket (mint az elektrokonvulzív terápia), stimuláló elektródák beültetésére nincsen szükség (mint a *deep brain stimulation* esetében), és nincsenek kölcsönhatási problémák más gyógyszerekkel, sem pedig szisztémás mellékhatások (mint a legtöbb antidepresszív gyógyszer esetében). Mi állatkísérleteket végeztünk a TMS pontos hatásmechanizmusának felderítése céljából, mert ez mindmáig tisztázatlan. A TMS hatását a krónikus pszichoszociális stressz (*social defeat*) paradigmában vizsgáltuk és elemeztük a stressz hormonok, illetve az AN változását (Czéh et al., 2002).

A felnőtt hím patkányok TMS kezelése 18 napig tartott, 20 Hz-es ingerléssel, összesen 5400 stimulust adtunk le. A GD-ban képződő új neuronok számát BrdU immunohisztokémiai eljárásunkkal kvantifikáltuk. Az AN két stádiumát vizsgáltuk: egyik a progenitor sejtek proliferációs aktivitása volt, a másik pedig az, hogy a kísérletes beavatkozások hogyan befolyásolták a BrdU-pozitív sejtek túlélésének arányát. A HPA-tengely aktivitásának jellemzése céljából az állatokban megmértük a plazma ACTH és kortikoszteron koncentrációit. Várakozásunknak megfelelően, a krónikus stressz szignifikánsan növelte a vér a stressz-hormon szintjét és hatékonyan gátolta a neuronok képződését és túlélését a GD-ban. TMS kezelés hatására a stressz hormonok koncentrációja a stresszelt állatokban normalizálódott. Ezzel szemben a szemcsesejt proliferáció redukciójának mértékét csak gyengén sikerült a TMS kezeléssel ellensúlyozni, miközben az újszülött neuronok túlélési aránya a TMS kezelés hatására tovább csökkent (Czéh et al., 2002).

Eszerint a TMS kezelés klinikailag is megfigyelt antidepresszáns hatásában a HPA-tengely működésére kifejtett effektus játszhat szerepet ugyanakkor a TMS kezelés - az általunk alkalmazott kísérleti elrendezésben - nem normalizálta a stressz-indukálta hippocampális AN csökkenést. Így ez utóbbi mechanizmus valószínűleg nem játszik szerepet a TMS antidepresszáns hatásában.

#### 4.4.2. Neurokinin-1 (NK<sub>1</sub>) receptor antagonisták

A Substance P és az NK<sub>1</sub> receptor-neurotranszmitter rendszerről többen felvetették, hogy fontos szerepet játszhatnak az érzelmi reakciók szabályozásában, illetve az affektív zavarok patofiziológiájában (McLean, 2005; Herpfer and Lieb, 2005; Czéh et al., 2006). A humán agyban is bőséges NK<sub>1</sub> receptor expresszió figyelhető meg, mégpedig éppen az érzelmi, illetve stressz reakciók szabályozásában fontos régiókban (Rigby et al., 2005). Kísérletek bizonyítékai szerint a szelektív NK<sub>1</sub> receptor antagonisták hatásos terápiát jelenthetnek a szorongásos megbetegedések bizonyos formáira és a depressziós hangulatzavarok kezelésére (Kramer et al., 1998; Furmark et al., 2005; McLean, 2005; Herpfer and Lieb, 2005; Czéh et al., 2006; Mathew et al., 2011).

Mi az L-760,735 kódjelű molekula (Merck) hatását vizsgáltuk a mókuscickányok magatartására és a hippocampusz plaszticitására a krónikus pszichoszociális stressz paradigmában (van der Hart et al., 2002, 2005). Az L-760,735 központi idegrendszeri hatását hasonlítottuk össze a klinikai gyakorlatban jól bevált triciklikus antidepresszáns clomipramin hatásával. Célunk az volt, hogy lehetőség szerint minél jobban utánozzuk a klinikai gyakorlatban alkalmazott antidepresszáns kezelés gyakorlatát, amint azt a 4.3. pontban említettük. A gyógyszerek adagolását a stressz kezdete után egy héttel indítva

naponta, orálisan, 4 héten át végeztük, miközben az állatokat tovább stresszeltük. A kísérlet végén NMRS segítségével vizsgáltuk néhány agyi metabolit *in vivo* koncentrációját, és poszt-mortem meghatároztuk a hippocampusz volumenét valamint a GD-ban a szemcsesejt-proliferációt. E kísérlet célja annak eldöntése volt, hogy vajon az NK<sub>1</sub> receptorok szelektív blokkolása képes-e ugyanolyan hatást kiváltani, mint amelyet a clomipramin.

Mind a stressz, mind az antidepresszáns kezelés szignifikáns hatást gyakorolt az agyi metabolitok koncentrációjára (van der Hart et al., 2002). Az *in vivo* NMRS mérés igazolta, hogy stresszelt állatokban az NAA, Cr, valamint a Cho-tartalmú komponensek koncentrációi szignifikánsan csökkentek, miközben az Ins a normális szinten maradt. A Stressz-csoporthoz viszonyítva a Stressz + L-760,735 állatokban az NAA, Cr és Cho metabolitok szintje a normális tartományban maradt, azaz hasonlított a Kontroll csoportból származó adatokhoz. A stresszelt állatok clomipramin kezelése hasonló hatást eredményezett, vagyis az NAA, Cr és Cho szintek a normális tartományban maradtak. Továbbá szignifikánsan emelkedett Ins koncentrációt figyeltünk meg úgy L-760,735, mint clomipramin kezelés után.

Az agyi metabolitok változásához nagyon hasonló eredményeket hozott a stressz és antidepresszáns kezelés a GD-ban zajló sejtosztódásra és a hippocampusz térfogatára gyakorolt hatása is. Stressz hatására a BrdU-pozitív sejtek száma kifejezett (-45%-os) csökkenést mutatott, míg a stresszelt állatok L-760,735 kezelése szignifikánsan magasabb BrdU-pozitív sejtszámot eredményezett. Hasonlóan, magasabb BrdU jelölt sejtszámokat kaptunk a Stressz + Clomipramin csoport egyedeiben is a csak stresszelt állatokhoz képest. Ezek bizonyítják, hogy mindkét szer képes kivédeni a stressz gátló hatását az AN-re. Ezenkívül, a hippocampusz térfogata szignifikánsan (-14%-al) csökkent a Kontroll csoporthoz képest a stresszelt állatokban. A kétféle antidepresszáns kezelés egymáshoz hasonlóan részben megakadályozta a térfogat csökkenést, a L-760,735: +10%; illetve a Clomipramin: +7% hippocampusz térfogat növekedést eredményezett. Sem a stressz, sem az antidepresszáns kezelés nem hatott a hippocampusz szemcsesejt rétegének térfogatára. Eszerint a stresszelt állatcsoportok GD-ban a sejtosztódás csökkenése nem volt olyan kifejezett, hogy ez a szemcsesejt réteg térfogatát megváltoztatta volna. Ugyanebben a kísérletben végzett magatartási vizsgálatok szerint a krónikusan stresszelt állatok több paramétere szignifikánsan változott, így pl. csökkent a lokomotoros aktivitásuk és a territoriális szagjelölő (*scent-marking*) viselkedésük is. Ezeket a stressz-indukálta magatartási változásokat a L-760,735 kezelés részben normalizálta (van der Hart et al., 2005). Egy további, a fentihez nagyon hasonló kísérletben, egy másik NK<sub>1</sub> receptor antagonist (SLV-323, Solvay) tesztelésekor nagyon hasonló eredményeket kaptunk (Czéh et al., 2005a).

#### **4.5. A stressz-indukálta hippocampális térfogat csökkenés sejtszintű mechanizmusai: Okoz-e a stressz neuron pusztulást?**

A klinikai, *in vivo* agyi képzővizsgálatokban, gyakorta megfigyelhető a hippocampusz térfogatának szelektív csökkenése azon betegség csoportokban, melyek háttérben súlyos és / vagy krónikus stressz áll (Sapolsky, 2000; Sheline, 2000; Campbell et al., 2004; Videbeck and Ravnkilde, 2004; Bremner, 2007; Gianaros et al., 2007). Közismert tünet az agysorvadás, mely pl. az előrehaladt életkor, kóros pl. hypoxiás állapotok, vagy neurodegeneratív kórképek gyakori melléktünete és az agy egészét érinti, de különösen szembetűnő a neokortex kéregállományában. Az alábbiakban természetesen



nem ezt a generalizált agysorvadást elemezzük, hanem kizárólag a limbikus strukturákra, leginkább a hippocampusra szorítkozó, szelektív térfogat csökkenéssel foglalkozunk. Ez a szelektív hippocampusz zsugorodás olyan betegségekben érvényesül, melyek közös vonása a súlyos, vagy hosszan tartó stressz, illetve az arteficiálisan magas a plazma glukokortikoid szint: pl. MD, PTSD (*post-traumatic stress disorder*), Cushing szindróma, tartós szintetikus glukokortikoid kezelés (pl. immunosuppresszív terápia kapcsán), vagy egyszerűen maga a krónikus stressz (Starkman et al., 1992; Sapolsky, 2000; Sheline, 2000; Campbell et al., 2004; Videbech and Ravnkilde, 2004; Bremner, 2007; Gianaros et al., 2007).

Mindmáig nem ismert, hogy milyen sejtszintű elváltozás(ok) áll(nak) e térfogat csökkenés mögött (Sapolsky, 2000; Czéh and Lucassen, 2007). A tradicionális elképzelés szerint a fenti betegségekben a hippocampusz térfogat csökkenésének oka a glukokortikoidok neurotoxikus hatása (Sapolsky, 2000). Ez a teória a nyolcvanas években született, amikor több tanulmány a súlyos stressznek kitett állatokban a hippocampusz CA1 és CA3 szubrégióiban fellépő neuron pusztulást dokumentálta. Ezeket az eredményeket a stressz-indukálta neuron pusztulásról azonban később nem sikerült reprodukálni (Vollmann-Honsdorf et al., 1997; Sousa et al., 1998; Leverenz et al., 1999; Lucassen et al., 2001, 2004, 2006; Müller et al., 2001; Stockmeier et al., 2004; Czéh and Lucassen, 2007). A kritikai utánvizsgálatot egyrészt az időközben kifejlesztett újabb módszerek (pl. precízebb sejtszámolási eljárások, illetve a szenzitívebb szövettani technikák) indokolják, másrészt az adatgyűjtés megismétlése során célszerű szigorúbban kontrollált kísérleti körülményeket használni. Ezért mi is megvizsgáltuk, vajon emelkedik-e a sejtpusztulás (vagyis az apoptotikus sejtek száma) a több hetes szociális stressznek kitett mókuscickányok hippocampuszában (Lucassen et al., 2001), és hogy vajon antidepresszáns kezelés képes-e befolyásolni a stressz-indukálta apoptózist a hippocampusban és temporális kéregben (Lucassen et al., 2004). Kérdésünk az volt, hogy az apoptózis útján pusztuló sejtek tömege magyarázhatja-e az észlelt hippocampális volumen redukciót.

Kísérleteinkben az apoptózis kimutatására az úgynevezett *in situ end labelling* (ISEL) technikát alkalmaztuk. Négy héten keresztül naponta stresszelt mókuscickányok hippocampuszát és temporális kérgét vizsgáltuk és hasonlítottunk össze egészséges, nem stresszelt állatokéval. A hippocampusz egészét tekintve az apoptotikus sejtek száma szignifikánsan csökkent a krónikusan stresszelt csoportban, miközben az entorhinális kéregben az apoptotikus sejtszám növekedett (Lucassen et al., 2001). A hippocampuszon belül a CA1 area, *stratum radiatum*-ában az apoptotikus sejtek száma szignifikánsan csökkent, míg a hilusban növekedett. A sejtpusztulás a CA1 areában másutt csupán enyhe mértékű volt. A CA3 piramis sejtek rétegében szintén csökkent az apoptotikus sejtek száma.

Ezután ellenőriztük, vajon az antidepresszáns kezelés képes-e a stressz-indukálta apoptózist befolyásolni (Lucassen et al., 2004). Négy kísérleti csoportot vizsgáltunk: Kontroll, Kontroll + Antidepresszáns (Tianeptine), Stressz, Stressz + Antidepresszáns (Tianeptine). A temporális kéregben a stressz növelte az apoptotikus sejtek számát míg a tianeptin kezelés egyértelmű anti-apoptotikus hatású volt úgy a stresszelt mint a nem stresszelt állatokban. Az Ammon szarv rétegeinek és régióinak összesített adatai szerint stressz hatására az ISEL-pozitív sejtek aránya szignifikánsan csökkent, míg a tianeptin kezelés ezen nem változtatott. A GD szemcsesejt rétegében a stressz enyhén fokozta az apoptózist (+30%), de ez, a tianeptin kezelés hatására csökkent a Kontroll + Tianeptin és a Stressz + Tianeptin csoportban is.

Eredményeink tehát nem támogatták azt a tradicionális koncepciót, miszerint a stressz a hippocampusban növeli a neuronpusztulás mértékét. Ugyanakkor kiderült az is, hogy a tianeptin kezelés anti-apoptotikus hatású. Továbbá Fluoro-Jade analízis használatával megállapíthattuk, hogy a stressz miatt pusztuló sejtek többsége glia és nem neuron.

#### **4.6. Milyen egyéb sejt szintű mechanizmusok csökkentik a stressz kapcsán a hippocampusz térfogatát? Számolhatunk-e a glia sejtek vagy a kapillarizáció redukciójával?**

Mivel a hippocampusz térfogat csökkenését nem a neuronok pusztulása okozza ezért a további kísérleteinkben a hippocampusz egyéb sejt típusaira koncentráltunk. Az agyszövetben a neuronokon kívül gliasejtek fordulnak elő nagy számban, illetve a vaszkularizáció képvisel még jelentős tömeget. Ezért azt vizsgáltuk, vajon a krónikus stressz érinti-e az asztrocitákat, illetve a hippocampusz kapillarizációját.

Elsőként azt ellenőriztük, vajon az asztrociták száma változik-e (Czeh et al., 2006), mert 1) ezek a leggyakoribb gliasejtek 2) egyértelműen azonosíthatók a GFAP (*glial fibrillary acidic protein*) antitesttel; 3) az általános gliasejt funkciók (*housekeeping*) mellett az asztrociták a szinaptogenezis, a szinaptikus hatásfok és a felnőttkori neurogenesis dinamikus regulátorai (Horner and Palmer, 2003; Newman, 2003; Slezak and Pfrieger, 2003). Valamint számos poszt-mortem szövettani vizsgálat bizonyítja a gliasejtek számának redukcióját depressziós betegekben, emiatt feltételezhető az is, hogy a gliasejtek funkciózavara szerepet játszik az affektív zavarok patogenezisében (Coyle and Schwarcz, 2000; Cotter et al., 2001a,b; Rajkowska and Miguel-Hidalgo, 2007).

Az irodalomban elsőként vizsgáltuk, hogy vajon a tartós pszichoszociális stressz megváltoztatja vagy sem a gliasejtek számát illetve azt, hogy az antidepresszáns kezelés ezt befolyásolja-e (Czeh et al., 2006). A stresszelt mókuscickányokat most fluoxetinnel kezeltük, mely egy a klinikumban jól ismert szelektív szerotonin reuptake gátló (SSRI) szer, mely ráadásul közvetlenül hat az asztrocitákra is (Schipke et al., 2011). Sztereológias sejtszámlálás után azt találtuk, hogy a krónikus stressz szignifikánsan, 25%-al csökkentette a GFAP-immunopozitív sejtek számát. Ezzel szemben, a fluoxetinnel kezelt (és stresszelt) állatokban a GFAP-pozitív sejtek száma alig csökkent. Másszóval a csak stresszelt állatok és a stressz + fluoxetinnel kezelt csoport között a GFAP-pozitív asztrociták száma szignifikánsan különbözött a fluoxetin kezelés protektív hatásának köszönhetően. Ezzel szemben a kontroll és kontroll + fluoxetinnel kezelt állatok között nem volt eltérés. Ebben a kísérletben enyhe (5%-os) hippocampusz térfogat csökkenést észleltünk a stressz eredményeként, és a korreláció analízis szignifikáns összefüggést mutatott a hippocampusz térfogata és az asztrociták száma között.

A második kísérletben azt vizsgáltuk, hogy vajon a krónikus stressz megváltoztatja-e a patkány hippocampusz kapillarizációját (Czeh et al., 2010). Ismeretes, hogy a hippocampusz kifejezetten sérülékeny olyan inzultusokkal szemben, mint az epileptiform aktivitás, hypoxia-ischemia illetve hypoglikémia, továbbá, hogy ha valamilyen stressz hatás előz meg egy ilyen inzultust vagy társul ahhoz, akkor a károsító hatás még kifejezettebb (Sapolsky, 1996; Conrad et al., 2004, 2007; McDonald et al., 2008). Az azonban tisztázatlan, hogy a stressz pontosan milyen mechanizmus útján súlyosítja ezeknek az inzultusoknak a neuronokra gyakorolt hatását. Egyik lehetséges magyarázat az, hogy a stressz az inzultushoz társulva a fokozottan felszabaduló glukokortikoidok révén csökkenti a neuronok regenerációs kapacitását. Egy másik, eddig

nem vizsgált lehetőség az, hogy a stressz a hippocampusz vérellátását gátolja, és ezáltal fokozza annak további inzultusokkal szembeni sérülékenységét. Ez utóbbi elképzelést támogatja az, hogy patkányokban 12 héten át tartó krónikus stressz csökkenti az agyi vérátáramlást (Endo et al., 1999).

A krónikus pszichoszociális stressz (*social defeat*) paradigmát ezúttal felnőtt hím patkányokban használtuk annak eldöntésére, hogy vajon a krónikus stressz és az antidepresszáns kezelés képes-e a vaszkularizáció elváltozását okozni (Czéh et al., 2010). Antidepresszáns kezelésként fluoxetint használtunk. Azért vizsgáltuk az antidepresszáns kezelés hatását is, mert ismert, hogy az elektrokonvulzív kezelés patkányok hippocampuszában stimulálja az angiogenezist (Hellsten et al., 2005; Newton et al., 2006).

Kitüntetett figyelemben részesítettük a GD szubgranuláris zónájának mikrovaszkularizációját. Ezt azért tettük, mert ebben a zónában zajlik az AN és ismert, hogy a kapillárisoknak különösen fontos szerepe van az AN-t szabályozó mikrokörnyezet kialakításában (*vascular niche*) (Palmer et al., 2000). Azonkívül a stressz gátló hatása az AN-re, különösen kifejezett a kapillárisok közvetlen szomszédságában (Heine et al., 2005). Ugyanakkor, az antidepresszáns kezelés nem csak az AN-t stimulálja, hanem a VEGF (*vascular endothelial growth factor*) expresszióját is (Warner-Schmidt and Duman, 2007). Ezért ebben a zónában mind a stressz, mind az antidepresszáns kezelés hatással lehet a kapillárisok számára.

A krónikusan stresszelt patkányok a típusos magatartás-fiziológiai tüneteket produkáltak, vagyis csökkent a lokomotoros és exploratív aktivitásuk, valamint szukróz preferenciájuk (Rygula et al., 2006). Testsúly növekedésük lelassult, alacsonyabb lett vérükben a tesztoszteron szintje, miközben a mellékvesekéreg súlya megnőtt (Rygula et al., 2006). További vizsgálataink bizonyították azt is, hogy a stressz csökkentette az AN-t, illetve, hogy a fluoxetin kezelés normalizálta a stressz-indukálta effektusok többségét (Rygula et al., 2006; Czéh et al., 2007).

A szövettani feldolgozást követően a hippocampusz minden régiójában sűrűn elágazódó RECA-1 (*rat endothelial cell antigen-1*) immunopozitív kapilláris hálózatot figyeltünk meg (Czéh et al., 2010). Kvantitatív eredményeink igazolták, hogy stressz hatására a kapillárisok száma, a hippocampusz mindhárom fő régiójában (GD, CA2-3, CA1) azonos mértékben csökkent, és ezt a fluoxetin kezelés nem befolyásolta. A stressz a GD szubgranuláris zónájában is hasonlóan negatív hatású volt. E munkánk az irodalomban elsőként számolt be a hippocampális mikrovaszkularizáció stressz-indukálta redukciójáról.

A fluoxetin kezelés nem hatott a hippocampusz kapilláris hálózatára, pedig több irodalmi lelet sugall efféle effektust, hiszen több olyan növekedési faktor szintje emelkedik antidepresszáns kezelést követően, melyek mind stimulálják az angionegezist (és az AN-t is), így pl. a *fibroblast growth factor-2* (FGF-2, Mallei et al., 2002), a *vascular endothelial growth factor* (VEGF, Warner-Schmidt and Duman, 2007), és a *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF, Duman and Monteggia, 2006). Mivel a fluoxetin nem hat a hippocampusz kapilláris hálózatára ezért kizárható, hogy ezen keresztül stimulálja az AN-t.

#### 4.7. A krónikus stressz funkcionális következményei:

##### I. A CA3 piramis sejtek elektrofiziológiai tulajdonságai

Az egyik legalaposabban dokumentált stressz-indukálta anatómiai elváltozás a hippocampusban a CA3 piramis sejtek apikális dendritfájának reorganizációja, mely a dendritek geometriai hosszának regressziójával és a dendritfa komplexitásának egyszerűsödésével jár (Watanabe et al., 1992; McEwen, 2000). Ezt először a CA3 régióban írták le, később kiegészítve azzal, hogy e hatást a glukokortikoid hormonok mediálják, és nem csak a CA3 régióra igaz, hanem a CA1-re, sőt a GD szemcsesejtjeire is. Feltételezhető, hogy efféle dendritfa reorganizációnak funkcionális következményi is vannak például azokban a kognitív zavarokban, melyek tartós stressz után oly gyakoriak (Conrad, 2006).

Ismert, hogy a dendrit-struktúra aránylag kisebb mértékű módosulása befolyásolja a neuronok sejttestéből elvezethető tüzelési mintázatot. Habár a hippocampális piramis sejtek tüzelési gyakorisága az apikális dendritfa hosszával egyenes arányban csökken (Bilkey and Schwartzkroin, 1990; Mainen and Sejnowski, 1996; Krichmar et al., 2002), mégis, a membránfeszültség változások terjedése, az akciós potenciál és a burst tüzelés küszöbe facilitálódik (Henze et al., 1996; Golding et al., 2001; Vetter et al., 2001; Krichmar et al., 2002). A tüzelési mintázatnak a dendritfa morfológiai változását kísérő módosulása jelentősen befolyásolhatja az információ feldolgozást a neuronhálózaton belül. Ugyanis a CA3 piramis sejtek sajátos (*intrinsic*) és a neuron hálózat által szabályozott burst tüzelésének paraméterei kritikus jelentőségűek mind a rekurrens kollaterálisok közreműködésével létrejövő LTP, mind pedig az úgynevezett éles hullám (*sharp-spike waves*) keletkezésében (Buzsáki, 1986; Bains et al., 1999).

Kérdés, hogy vajon a CA3 piramis sejtek dendritfáját redukáló krónikus stressz, befolyásolja vagy sem ezen neuronok input-output jellegét vagy az ingerlékenységét. Ezt eldöntendő felnőtt, hím mókuscickányok hippocampusz szelet preparátumaiban “*whole-cell current-clamp*” módszerrel analizáltuk a CA3 piramis sejtek elektrofiziológiai tulajdonságait, majd az elvezetések utólagos biocytin jelölés és részletes morfometriai feldolgozás követte (Kole et al., 2004). A vizsgált sejtek egyrészt kontroll állatokból, másrészt olyanokból származtak, melyeket előzőleg 28 napos pszichoszociális stressznek vetettük alá.

A stresszelt állatok hippocampuszában, a CA3 piramis sejtek apikális dendritfája szignifikánsan leegyszerűsödött és megrövidült. Az irodalomban elsőként közölt leletünk, hogy a stressz csökkenti ugyan a CA3 piramis sejtek küszöb alatti ingerlékenységét, az aktív membrántulajdonságok mégis épen maradnak. A *whole-cell* elvezetéseink tanúsága szerint a stresszelt sejtek membránjának idő-állandója és bemenő ellenállása 20-25%-al csökkent. Ugyanezen sejtekben a hiperpolarizáló feszültséggel keltett “sag” komponens amplitúdója viszont megnőtt. A membrán aktív tulajdonságai, nevezetesen a depolarizációval keltett akciós potenciálok kinetikája, a komplex (rövid burst) tüzelési mintázatok paraméterei és egyéb tulajdonságai, mint például az utóhiperpolarizációs feszültség értékei nem tértek el egymástól a kontroll és a stresszelt CA3 sejtekben. A lineáris asszociáció korreláció analízis (két oldali parametrikus Pearson teszt) eredménye megerősítette, hogy az olyan enyhe sejtgeometriai különbségek, mint a dendritfa fentebb leírt atrofíája együtt jár azzal a funkcionális módosulással, melyet az akciós áram és annak feszültség küszöbe mutatott. E változások mértéke azonban túl kicsi volt és valószínűleg ezért nem tükrözött a kísérleti állatcsoportok közötti eltérést.

#### 4.8. A krónikus stressz funkcionális következményei:

##### II: A GABAerg interneuronok működésére kifejtett hatás

Stressz hatására emelkedik a vérben a kortikoszteroidok szintje, és ezek hatását a mineralokortikoid és glukokortikoid receptorok (MR és GR) közvetítik. E receptorok az agyszövetben is bőven előfordulnak, és úgy az emocionális, mint a kognitív funkciókat szabályozzák (de Kloet et al., 1975, 2005; Lupien et al., 1998; Joëls et al., 2007). Mivel az MR és GR elsősorban a principális neuronokban expresszálódnak, így érthető, hogy a korábbi, a kortikoszteroidok hippocampusban kifejtett neuronális hatásaival foglalkozó tanulmányok is ezekre az idegsejtekre fókuszáltak (Karst et al., 2005; Joëls et al., 2007; Joëls, 2008). Emiatt a GABAerg interneuronok elhanyagolódtak, pedig ismert, hogy stresszor illetve glukokortikoidok hatására megnő a GAD<sup>2</sup> expresszió, a GABA felszabadulás és az IPSC<sup>3</sup> nagysága is (Bowers et al, 1998; Stone et al, 2001; de Groote and Linthorst, 2007; Maggio and Segal, 2009). E leletekkel párhuzamba állíthatók azok a klinikai megfigyelések, melyek depressziós betegekben a GABAerg szabályozás zavaráról számolnak be (Sanacora et al, 1999; Krystal et al, 2002; Brambilla et al, 2003; Luscher et al., 2011).

A GABAerg interneuronok különféle fajtái olyan gátló hálózatokat alkotnak, melyek a piramis sejtek tüzelési mintázatát formálják és ezen keresztül a határozottan elkülönült agyi állapotokra jellemző oszcillációkat organizálják (Buzsáki and Draguhn, 2004; Somogyi and Klausberger, 2005). Például, a GABAerg interneuronok egy specifikus fajtája a principális neuronok periszomatikus régióját innerválja és kritikus szerepet játszik a hálózat oszcillációjának szinkronizálásában (Somogyi and Klausberger, 2005; Klausberger et al, 2005). A különböző frekvenciájú oszcillációk képezik az olyan komplikált, magasabb rendű agyműködések neuronális alapját, mint például a percepció vagy a tanulás és memória (Buzsáki and Draguhn, 2004; Somogyi and Klausberger, 2005).

Jelen tanulmányunk (Hu et al., 2010) a két legfontosabb, periszomatikus régióra projiciáló—interneuron csoportra koncentrált, melyek a parvalbumin (PV) és cholecystokinin (CCK) pozitív gátló idegsejtek. E két alcsoport működése funkcionális dihotómiát alkot, mert egymástól élesen különböző membrán tulajdonságaik, expresszált receptor-készletük és a preszinaptikus modulációik ezt lehetővé teszik (Klausberger et al, 2005; Freund and Katona, 2003). A PV-pozitív (PV+) neuronhálózatot az oszcilláció precíz, de nem plasztikus óraművének tekintik, szemben a CCK-pozitív (CCK+) neuronokkal, melyek plasztikus, finoman hangolható eszközt alkotnak, ez pedig a szinkron aktivitást a szubkortikális bemenetek függvényében modulálja (Freund and Katona, 2003). E funkcionális dihotómia alapján feltételezik, hogy a CCK+ neuron hálózat hibás működése szerepet játszik az emocionális zavarok, mint például a szorongás mechanizmusában (Freund and Katona, 2003).

Mindezek ismeretében célunk az volt, hogy megvizsgáljuk, hogyan változik a hippocampusban a GABAerg transzmisszió krónikus stressz után (Hu et al., 2010). Annak felderítésére, hogy a stressznek a GABAerg transzmisszióra gyakorolt hatását vajon a glukokortikoidok mediálják-e, egy potens GR agonistát, (DEX<sup>4</sup>), használtunk. A GABAerg transzmissziót a CA1 area piramis sejtjeiből történő *whole cell patch-clamp* elvezetéssel vizsgáltuk. Ezen túlmenően azt is elemeztük, hogy a PV+ és CCK+ neuronok

<sup>2</sup> GAD: *glutamic acid decarboxylase*, enzim, mely a glutamát dekarboxilálását katalizálja GABA-vá

<sup>3</sup> IPSC: *inhibitory postsynaptic current*

<sup>4</sup> DEX: *dexamethasone*, szintetikus glukokortikoid, mely igen nagy affinitással kötődik a GR-hoz, míg affinitása a MR-hoz ~0

funkcionális dihotómiája miként érvényesül a krónikus stressz körülményei között. Pontosítva, kerestük a krónikus stressz eltérő hatásait a PV és CCK interneuronok IPSC képző hatásaiban.

#### 4.8.1 DEX kezelés a GABAerg ingerület átvitelt egy gyors, nem klasszikus GR mechanizmuson keresztül facilitálja

Mivel a stressz a glukokortikoidokon keresztül befolyásolja az excitátoros ingerület átvitelt, feltételeztük, hogy a GR aktiváció a gátló neuronhálózatok működését is módosítja. Ezért egy potens és szelektív GR agonistával (DEX) kezeltünk patkány hippocampusz szeleteket. DEX kezelés után mind a sIPSC<sup>5</sup> frekvencia mind a sIPSC amplitudó gyors növekedését figyeltük meg (Hu et al., 2010). Meglepő módon a DEX facilitáló hatása minden esetben gyorsan, már öt perc után is érvényesült. Ez a hatás a következő mintegy öt perc során tovább erősödött, majd ezután fokozatosan elenyészett. A vizsgált kilenc sejtből hatban DEX hatására burst-tüzelés fejlődött ki, melynek nyomait a DEX kezelés előtt nem észleltük. Efféle gyors DEX hatást a korábbi közlések nem említik (Maggio and Segal, 2009). Az sIPSC facilitálásával ellentétben DEX hatására a miniature IPSC (mIPSC) nem változott szignifikánsan. Ez a megfigyelésünk arra utal, hogy a korábbi, lassú DEX hatásról beszámoló közléssel (Maggio and Segal, 2009) ellentétben, az általunk megfigyelt gyors DEX hatás nem a szinaptikus végződéseken érvényesül.

Váratlan volt a DEX-nak e meglepően gyorsan<sup>6</sup> kifejlődő hatása, amely a GABA ingerület átvitelt fokozta. A glukokortikoidok képesek a hippocampusz piramis sejtjeinek aktivitását fokozni valószínűleg a „sejtmembránban lévő GR receptorok”<sup>7</sup> stimulálása útján (Karst et al, 2005). Esetünkben azonban ez a közvetett úton - először a piramis sejtek, majd rajtuk keresztül a GABAerg neuronok - történő aktivitás fokozódás valószínűleg, mert a GABAerg neuronokra irányuló excitátoros hajtóerőt mediáló glutamaterg ingerület átvitelt CNQX<sup>8</sup> és APV<sup>9</sup> gátlás alatt tartottuk éppen az sIPSC tiszta megfigyelése érdekében.

Ezért egy további kísérletsorozatban (Hu et al., 2010) próbáltuk felderíteni, hogy itt a DEX pontosan milyen fajta receptoron hat. Kiderült: hogy 1) a DEX fent leírt gyors stimuláló effektusa megmaradt akkor is, ha az intracelluláris MR antagonista spiro lactont vagy a szintén intracelluláris GR antagonista mifepristont mostuk rá a szeletre. Ezek az antagonisták önmagukban nem változtatták meg szignifikánsan az sIPSC egyik vizsgált paraméterét sem. 2) A DEX-nak a GABA felszabadulást stimuláló hatását reprodukálni lehet egy membrán impermeabilis BSA-DEX konjugátum tápoldatba keverésével. 3) Egy G-protein gátlószer (GDP-b-S) a patch pipetta töltő folyadékába keverésével intracellulárisan blokkolni lehet a DEX-indukálta sIPSC frekvencia növekedést. Mindezek együtt határozottan alátámasztják azt a feltevésünket, hogy a gyors DEX hatást egy *non-genomic*, membránhoz kötött GR közvetíti, mely azután egy G-protein dependens szignáltranszdukciós effektor rendszeren keresztül hat. Ez a gyors mechanizmus tehát lényegesen eltér a tradicionális, genomic GR-mediálta lassú (>25 min, Maggio and Segal, 2009) folyamattól. Továbbá, mivel a GDP-b-S kezelés csak abban az egyetlen posztszinaptikus (a patch pipettával megfigyelt) piramis sejtben érvényesült, amelyből

<sup>5</sup> sIPSC: *spontaneous inhibitory postsynaptic currents*

<sup>6</sup> Ismert, hogy a glukokortikoidok típusosan az intracellulárisan elhelyezkedő GR-hoz kötődnek és a gének expresszióját illetve a protein szintézist befolyásolják, ami egy időigényesebb (>25 min) mechanizmus.  
<sup>7</sup> „membrane-bound GRs”

<sup>8</sup> CNQX: kompetitív AMPA/kainate receptor antagonista

<sup>9</sup> APV: szelektív NMDA receptor antagonista

éppen elvezettünk, így eredményeink arra utalnak, hogy a DEX legalábbis részben a posztzinaptikus sejtekre hat és a GABA felszabadulást stimuláló effektust egy retrográd messenger közvetíti.

#### **4.8.2 A GABAerg ingerület átvitel DEX-keltette facilitációját retrográd Nitric-Oxid (NO) szignál közvetíti**

A következő célunk annak tisztázása volt, vajon melyik retrográd messenger rendszer közvetíti a DEX GABA felszabadulást stimuláló hatását. Ismert, hogy a hippocampusban az endocannabinoidok a GABA felszabadulás gátlását CB1 receptorokon keresztül közvetítik, melyek kizárólag a CCK+ interneuronokon expresszálódnak (Freund and Katona, 2003). Ezért nagyon valószínűtlen, hogy ugyanaz az endocannabinoid-CB1 retrográd messenger rendszer lenne felelős mind a GABAerg ingerület átvitel facilitációjáért, mind pedig annak gátlásáért. Továbbá, ismert az is, hogy egy NO-szenzitív guanylyl cycláz van mind a PV+, mind a CCK+ neuronok axon terminálisában (Szabadits et al, 2007). Ezért figyelmünk az NO retrográd messenger rendszerre terelődött.

Létezik egy szelektív NO-synthase gátló hatóanyag, a 7-nitroindazole (7-NI). Ennek az intracelluláris adagolása önmagában nem hatott a sIPSC jelekre, viszont teljes mértékben blokkolta a DEX-indukálta sIPSC frekvencia és amplitudó növekedést (Hu et al., 2010). Hasonlóan, a szeletek inkubálása egy szelektív NO-szenzitív guanylyl cyclase (NOsGC) gátlóban (ODQ), teljesen blokkolta a DEX hatását a GABA felszabadulásra. Eszerint úgy az NO szintézis gátlása, mint az NO kiváltotta szignál blokkolása teljes egészében felfüggeszti a DEX rapid, az sIPSC jelekre gyakorolt hatását. Ugyanakkor a DEX kiváltotta effektust jól reprodukálta az NO donor SNAP adagolása (Hu et al., 2010). A SNAP nemcsak hogy facilitálta az sIPSC-k frekvenciáját és amplitudóját, de még a DEX gyorsan kialakuló hatását is teljes mértékben utánozta. Mindezek az eredmények azt jelzik, hogy a DEX-indukálta rapid GABAerg ingerület átvitel facilitációt retrográd NO szignál közvetíti (Hu et al., 2010).

#### **4.8.3 A GABAerg ingerület átvitel DEX-keltette facilitációját, legalábbis részben, NO-indukált CCK felszabadulás közvetíti**

Az agyban a CCK neuropeptid szerepet játszik a stressz válaszok szabályozásában (Hebb et al., 2005; Becker et al., 2008). Ezért ellenőriztük (Hu et al., 2010), hogy vajon a DEX-keltette gátlás facilitációkor növekszik vagy sem a CCK felszabadulás a CCK interneuronokból, hiszen ez tovább modulálhatná a periszomatikus GABA felszabadulást (Földy et al., 2007). A szeleteket az elvezetések megkezdése előtt egy szelektív CCK2 receptor antagonistában (LY225910) inkubáltuk. Ez az antagonista önmagában nem befolyásolta az sIPSC jeleket, de blokkolta a kívülről bevitt CCK keltette reakciót. Az inkubálás utáni DEX adás következtében a már ismert módon megnőtt az sIPSC frekvencia és amplitudó. Fontos azonban, hogy az ezen inkubáció nélkül észlelt adatokhoz képest az LY225910 inkubált szeletekben a DEX hatására észlelt sIPSC frekvencia és amplitudó facilitáció mértéke feltűnően kisebb volt. LY225910 jelenlétében a DEX hatása 5 helyett 3 percre rövidült, de annak kezdeti időpontja nem változott. Visszont az LY225910 inkubálás után, az NO donor SNAP a GABAerg ingerület átvitelt stimuláló hatása szignifikánsan csökkent. Az a tény, hogy a CCK2 receptor antagonista képes volt részben blokkolni a rapid DEX és az SNAP hatást, két következtetést enged. Egyik, hogy a CCK felszabadulás részt vesz a DEX keltette reakcióban, a másik hogy az NO szignál endogén CCK felszabadulást okoz, mely viszont tovább facilitálja a GABAerg ingerület átvitelt.

#### 4.8.4 Akut stressz fokozza a GABAerg ingerület átvitelt a hippocampusban

Mivel a glukokortikoidok nem csupán a stressz reakciókban szerepelnek, fontos tisztázni, hogy vajon a valós stressz is növeli-e a GABAerg ingerület átvitelt. Ezt a kérdést patkányok akut stressz reakciójának vizsgálatával közelítettük meg (Hu et al., 2010). Az akut stressz ez esetben egy 30 perces mozgás korlátozás (*restraint*) volt, ami után az állatokat azonnal leöltük és a hippocampuszuktól nyert szeleteket vizsgáltuk a fentiekkel azonos módon.

Akut stressz után az sIPSC frekvencia megnőtt a kontroll állatokhoz képest, ugyanakkor az sIPSC amplitúdó változatlan maradt. Továbbá a stresszelt állatokból készült szeletekben vizsgált 10 sejt közül hétben észleltünk burst aktivitást, míg ugyanez a jelenség a kontroll állatokból készült szeletekben sokkal ritkább (7 sejt közül 2) volt. Eszerint habár akut stressz hatására növekedett ugyan a GABAerg ingerület átvitel a hippocampusz CA1 régiójában, ez a jelenség csak hasonló, de nem egészen azonos a DEX-keltette effektussal (Hu et al., 2010; Maggio and Segal, 2009).

#### 4.8.5 Krónikus stressz a GABAerg ingerület átvitel $\text{Ca}^{2+}$ dependens emelkedését okozza

A következő kérdésünk az volt, hogy vajon az akut stressz után észlelt sIPSC facilitáció fennmarad vagy sem tartós stressz közben is, amikor az idegrendszer hosszú időn át kénytelen a stressz hormonok, köztük a kortikoszteron hatását elviselni. Erre a célra olyan patkányokat használtunk, melyek 3 héten át, naponta, *restraint* stresszt szenvedtek el (Hu et al., 2010). Szignifikáns sIPSC frekvencia emelkedést, de csak gyenge (nem szignifikáns) amplitúdó növekedést észleltünk. Burst tüzelést ebben a csoportban is gyakran (16 sejt közül 10 esetben) figyeltünk meg. Továbbá kiderült, hogy a stressz rovására írható sIPSC frekvencia növekedés a szabad  $\text{Ca}^{2+}$  szint függvénye, mert a frekvencia emelkedés elmaradt a membrán permeabilis  $\text{Ca}^{2+}$  kelátor EGTA-AM jelenlétében. Ugyanez  $\text{Ca}^{2+}$  kelátor a kontroll állatokból készült szeletekben nem hatott. Ez a lelet jelzi, hogy a hippocampális interneuronokban a krónikus stressz rovására írható GABAerg ingerület átvitel facilitáció az intracelluláris szabad  $\text{Ca}^{2+}$  koncentráció függvénye. A krónikusan stresszelt patkányok hippocampusz szeleteinek tápoldatába adagolt DEX a CA1 piramis sejtekben észlelt sIPSC paraméterek semmiféle szignifikáns változását nem okozta. Még tisztázatlan, hogy a DEX miért hatástalan a krónikusan stresszelt állatokban.

#### 4.8.6 Krónikus stressz hatására csökken a PV+ neuronok száma, miközben a CCK+ sejteké változatlan marad

Két megfigyelést kell megfontolni. Egyik, a PV+ és CCK+ neuronok funkcionális dihotómiája (Freud and Katona, 2003), a másik pedig, hogy a DEX facilitálja az endogén CCK felszabadulást (Hu et al., 2010). Ez utóbbi viszont specifikusan stimulálja a PV+ sejteket. Ezek fényében merül fel a kérdés, hogy vajon a krónikus stressz egyformán hat-e erre a két periszomatikus gátlósejt csoportra. Először azt vizsgáltuk, hogyan hat a krónikus stressz a PV+ és CCK+ sejtek strukturális integritására. Tettük ezt azért is, mert egy korábbi tanulmányunkban már kiderült, hogy krónikus stressz után csökken a PV+ sejtek száma a mókuscickányok hippocampuszában (Czéh et al., 2005b). Ezért a jelen kísérletben is kvantifikáltunk a PV+ és CCK+ sejtek számát a patkányok dorzális hippocampuszában. Ahogy azt vártuk, a krónikus stressz szignifikánsan csökkentette a



PV+ sejtek számát az összes hippocampális szubrégióban: a GD-ban -31%-os csökkenés, a CA2-CA3 areákban -23%-os és végül a CA1 szubrégióban -36%-os redukció. Ezzel szemben a CCK+ neuronok száma változatlan maradt (Hu et al., 2010).

#### 4.8.7 Krónikus stressz hatására a PV+ interneuronok ritmikus aktivitást generáló képessége károsodik

A következőkben arra kerestük a választ (Hu et al., 2010), vajon a krónikus stressz fent észlelt eltérő hatása a PV+ és CCK+ sejtek strukturális integritására, jár-e valamilyen funkcionális következménnyel. Ismeretes, hogy egyfajta finoman regulált  $\text{Ca}^{2+}$  szignalizáció szükséges az interneuronok kimenetét jellemző időbeli precizitáshoz (Hefft and Jonas, 2005). Mint eredményeinkből kiderült, krónikus stressz az interneuronokban fölös mennyiségben teremt intracelluláris szabad kalcium iont. Ezért elhatároztuk annak ellenőrzését, hogy vajon a krónikus stressz befolyásolja-e a periszomatikus interneuronok ritmikus tüzelést generáló funkcióját, mely a piramis sejtekben ébredő akciós potenciálok időzítésének igen fontos meghatározója. Ismeretes, hogy *in vitro* hippocampusz szeletben mind a CCK analógok mind pedig a carbachol<sup>10</sup> alkalmas ritmikus sIPSC-k keltésére. A carbachol-keltette ritmikus IPSC jeleket endocannabinoidok, N-típusú kalcium csatorna blokkolók, valamint a GABA-B receptorok aktivációi gátolják (Karson et al, 2008). Ezzel szemben a CCK-triggerelt ritmikus IPSC jeleket a P/Q kalcium csatorna blokkolók gátolják, de ezek a jelek nem endocannabinoid érzékenyek (Karson et al, 2008). Tekintettel arra, hogy a CCK+ és a PV+ interneuronok celluláris tulajdonságaik szempontjából határozottan elkülönült sejtcsoportokat alkotnak, feltehető, hogy a carbachol a CCK+ sejtek aktiválásán keresztül indít ritmikus sIPSC jeleket, míg a CCK a PV+ sejtek stimulálásán keresztül váltja ki azokat (Karson et al, 2008).

Először a kontroll patkányok hippocampuszából metszett szeletek tápoldatába kevert carbacholt használtunk ritmikus sIPSC jelek keltésére (Hu et al., 2010). Röviddel a ritmikus aktivitás beindulása után választott tíz másodperces sIPSC aktivitási szakaszokon végzett autokorrelációs analízis eredménye szerint a 8 vizsgált sejtől 8 esetben láttunk szabályosan ismétlődő függvény csúcsokat. Ugyanezen carbachol adása utáni sIPSC aktivitási szakaszokon végzett *power spektrum* analízis szerint minden sejtben szignifikánsan nőtt a *total power* és ezen belül egy éles *power* csúcs fejlődött ki a 4-14 Hz-es téta frekvencia tartományban. Hasonlóképpen, a tápoldatba kevert CCK8-S kódnevű CCK analóg is ritmikus sIPSC aktivitást keltett, melyet szintén manifeszt, regulárisan ismétlődő autokorrelációs csúcsok kialakulása és a *power spektrum* szignifikáns növekedése jellemez, különösen a téta frekvencia tartományban, mind a 8 vizsgált neuronban. Mások megfigyeléseivel egybehangzóan a CCK analóggal keltett ritmus kevésbé volt variábilis és az aktivitás tartósabb volt, mint a carbachollal keltett aktivitás.

A krónikusan stresszelt állatokból metszett szeletekben a carbachollal keltett reakció mindenben hasonlított a kontroll állatokból származó adatokhoz. Ezzel szemben a CCK8-S adásakor megvizsgált 10 stresszelt sejt közül egyikben sem alakult ki ritmikus sIPSC tevékenység. A kontroll állatokban észlelt leletektől eltérően a stresszelt állatokban a CCK agonista csak aritmiás tevékenységet generált, melyet a belőle szerkesztett lapos autokorrelációs függvény igazolt. Hasonlóan, CCK8-S hatására a stresszelt állatokban a *relativ theta power* sem változott, annak ellenére hogy a *total power* erőteljesen megnőtt. Ez azt mutatja, hogy a GABAerg ingerületátvitel facilitációja mellett a tüzelés időbeli

<sup>10</sup> Carbachol: egy muszkarin acetilkolin receptor agonista

precizitása a krónikusan stresszelt állatok CCK szenzitív PV+ sejtjeiben súlyosan zavart, miközben ugyanezek a paraméterek a carbachol érzékeny CCK+ sejtekben nem változnak.

#### 4.8.8 Az elektrofiziológiai eredmények összefoglalása és értékelése

Tanulmányunkból négy teljesen új megfigyelés körvonalazható:

- 1) akut GR agonista adagolás a hippocampusz szeletben rapid sIPSC aktivitás növekedést okoz, melyet membránhoz kötött GR és retrográd NO szignál közvetít
- 2) valós akut stressz a fentihez hasonló hippocampális sIPSC facilitációt okoz
- 3) krónikus stressz szintén fokozza a hippocampális GABAerg ingerület átvitelt, ez a mechanizmus  $\text{Ca}^{2+}$  dependens, és DEX kezeléssel nem lehet tovább növelni, legalábbis az sIPSC jelek tovább már nem facilitálódnak
- 4) a krónikus stressz specifikusan a PV+ sejtekből származó ritmikus sIPSC aktivitást zavarja.

Feltételezzük, hogy mivel a PV+ interneuronokat mind az NO mind a CCK stimulálja, e sejtek intenzív ingerlésének eredménye előbb-utóbb valamiféle funkcionális és strukturális deficit. Tekintettel a PV+ sejteknek a hálózati oszcillációban játszott vitális szerepére (Somogyi and Klausberger, 2005; Sohal et al., 2009), a stressz következtében létrejött deficit rejtőzhet azoknak a megváltozott oszcillációs mintázatoknak a hátterében, melyeket gyakran látni stressz-indukálta pszichiátriai megbetegedésekben. Hasonló mechanizmust írtak le skizofréniás betegekben, akiknél feltételezik, hogy a PV+ interneuronok működési zavarához megváltozott gamma-oszcilláció társul és ez képezné a betegségre oly jellemző working-memória-deficit sejtszintű mechanizmusát (Lewis et al., 2005; Lodge et al., 2009).

#### 4.9. A krónikus stressz funkcionális következményei:

##### III: A kognitív funkciókra kifejtett hatás

A krónikus stressz kognitív funkciókra gyakorolt hatása élenként vitatott téma és egymással ellentétes álláspontokat találunk az irodalomban. A leginkább elfogadott nézet szerint a kognitív funkciók egyik fontos összetevője, a memória, stressz hatására romlik (Lupien and McEwen, 1997; Lupien et al., 2009), miközben más adatok szerint a memória javul, vagy legalábbis nem romlik (Conrad et al., 1999; Bowman et al., 2001; Grant et al., 2001). Ezek a megfigyelések különféle tesztek eredményein alapulnak, melyek között hippocampusz-függő feladatok is szerepelnek. Ismert, hogy a hippocampusz fontos szerepet játszik az epizódikus-deklaratív memória beíró és konszolidáló mozzanataiban (Squire, 1992; Eichenbaum, 2000). Megvizsgáltuk, hogy az a krónikus stressz paradigma, amely egyértelmű morfológiai elváltozásokat okoz a felnőtt mókuscickányok hippocampuszában (4.1., 4.3.-4.7.), vajon károsítja-e a kognitív funkciókat is.

E kísérletben hat kontroll és ugyanennyi stresszelt állat szerepelt. Egy hetes szoktatási idő (0. hét) után a stressz csoport állatait 35 napon keresztül (1-5. hetek) naponta pszichoszociális stressznek vetettük alá. A kognitív teljesítményt a 0, 1, 2, és negyedik héten ellenőriztük (Bartolomucci et al., 2002) egy olyan teszttel, amelyben az állatoknak egy lefedett üregekkel rendelkező táblán (*holeboard*) különböző térbeli rendszerben elrejtett jutalom falatokat kellett megtalálniuk.

A stresszelt csoport állatai a hetek előrehaladtával a hippocampusz-függő feladatban egyre kevesebb hibát ejtettek a kontroll csoport állatainak teljesítményéhez képest. Ugyanebben a feladatban a stressz nem okozott változást az ismételt próbálkozások (az előzőleg már kiürített, jutalmazott üreg újra felnyitása) számában. A hippocampusz-független tanulási tesztben semmilyen változást nem észleltünk sem a stressz eredményeként, sem pedig az idő függvényében.

Adataink egy nagyon specifikus memória funkció markáns javulását demonstrálják olyan mókuscickányokban, melyeket 5 héten át naponta stresszeltünk. Ez a tanulási teljesítmény javulás csak a hippocampusz-függő feladatban és csak a referencia-memóriában mutatkozott. Ezzel szemben, az úgynevezett munka-mémória (*working memory*), azaz az ismételt próbálkozások száma nem változott egyik csoportban illetve egyik feladatban sem.

#### 4.10. Krónikus stressz indukálta sejtszintű reakciók a prefrontális kortexben

Mint azt megállapítottuk, az stressz jelentősen befolyásolja a hippocampusz neuronjainak plaszticitását. Bár a hippocampusz a legintenzívebben vizsgált struktúra, ismeretes, hogy a stressz befolyásolja a limbikus rendszer egyéb részeinek plaszticitását is (pl. a prefrontális kéreg (PFC), és az amygdala) (Vyas et al., 2002; Fuchs et al., 2004b; Czéh et al., 2008; Holmes and Wellman, 2009). Köztudott az is, hogy a PFC-t érintő elváltozásoknak kitüntetett szerepe van a depresszió kóroktanában (Drevets et al., 1997). Itt foglaljuk össze a PFC-re fókuszáló kísérleteinket.

Elsősorban arra voltunk kíváncsiak, hogy vajon a krónikus stressz illetve az antidepresszáns kezelés, hogyan hat a sejtek – esetleg neuronok – képződésére a PFC-ben. Mint azt korábban említettük, újszülött neuronokat írtak le még főemlősök több kortikális régiójában is, bár erre nézve negatív közlések is léteznek (Gould et al., 1999b; Kornack and Rakic, 2001; Bernier et al., 2002; Rakic, 2002b; Bhardwaj et al., 2006; Cameron and Dayer, 2008). Korábbi tanulmányok szerint az antidepresszáns kezelések (fluoxetin, elektrokonvulzív kezelés) nemcsak a GD sejteinek proliferációját fokozzák, hanem a mediális PFC (mPFC) strukturájában is hasonló változás jelenik meg (Kodama et al., 2004; Madsen et al., 2005). Azonban az idézett szerzők az antidepresszívumoknak a PFC strukturájára kifejtett hatását csak egészséges (kontroll) állatokban vizsgálták. Ez a megközelítés ellentmond a klinikai gyakorlatnak, ahol az antidepresszáns kezelés és az elektrokonvulzív terápia a depresszióban nem szenvedő páciensekben majdnem biztosan nem kelti azokat az idegrendszeri változásokat, melyeket ugyanezen kezelések kapcsán depressziós betegekben lehet megfigyelni.

Ismét a krónikus pszichoszociális stressz (*social defeat stress*) paradigmát használtuk (Czéh et al., 2007). Állatainkat 5 héten át stresszeltük, de egy részük a kísérlet második hetétől kezdődően 4 héten át naponta, orális fluoxetin kezelést kapott. Az osztódó sejteket BrdU-val jelöltük, és a sejtek proliferációját, illetve az újszülött sejtek túlélését kvantitatív sztereológiai módszerekkel határoztuk meg. Kísérletünk fókuszában az mPFC volt, de analizáltuk a hippocampuszt mint pozitív kontroll struktúrát és két nem limbikus agyrészt, azaz a primer motoros kérget és a szubventrikuláris zónát is, melyek mint negatív kontroll régiók szerepeltek.

Egyfelől vizsgáltuk a sejtek proliferációs aktivitását a gyrus dentatus-ban. Stressz után a proliferációs aktivitását mintegy 25%-al csökkent, míg a fluoxetin kezelése sikeresen kivédte a stressz hatását. A fluoxetin kezelés (stressz nélkül) a kontroll állatokban nem okozott sejtproliferáció növekedést. Meghatároztuk továbbá az újszülött

sejtek túlélési arányát is a gyrus dentatus-ban. Hasonlóképp, stressz hatására a BrdU jelölt sejtek száma 55 százalékkal csökkent, amit a fluoxetin kezelés normalizált, míg a kontroll állatok fluoxetin kezelése nem hatott az újszülött sejtek túlélésére.

A hippocampuszhoz hasonlóan, krónikus stressz gátolta a sejtproliferációt az mPFC-ben is. A bal féltekében –55%-os, a jobboldaliban –32%-os csökkenést észleltünk. A stresszelt állatok fluoxetin kezelése mindkét féltekében növelte a proliferációs aktivitást, melynek eredményeként szignifikáns különbség volt a Stressz és Stressz + Fluoxetin csoportok között. Kontroll állatokban a fluoxetin kezelés csupán gyenge (+16%-os) növekedést okozott, mely nem volt szignifikáns. A stressz csökkentette mind a bal (–49%), mind a jobb (–29%) féltekében az újonnan született sejtek túlélő hányadát. A stresszelt állatok fluoxetin kezelése kivédte a stressz hatását, míg kontroll állatok fluoxetin kezelése nem okozott szignifikáns változást.

A GD areában BrdU+ sejtek többsége (70-77%-a) egy neuron specifikus markerrel (NeuN) is jelölődött, míg egy kisebb részük (5-13%-uk) az asztroglia specifikus markerrel (GFAP) mutatott kettős jelölődést. Ezek az arányok nem különböztek a különböző kezeléseken átesett állatcsoportokban. Más glia markereket is kipróbáltunk, de a dentatus-ban a GFAP jelölte meg a BrdU+ glia sejtek többségét. Szemben a GD areában megfigyeltekkel, a prefrontális kéregben egyáltalán nem találtunk olyan újszülött sejteket, melyek neuronális markert expresszáltak volna. Itt a BrdU+ sejtek többsége (63-80%-a) NG2-pozitívnak mutatkozott. Az NG2 egy oligodendroglia prekursor marker. A BrdU+ sejtek egy kisebb hányada (16-21%-a) endothél sejtnak mutatkozott, mivel ezek a RECA-1 antitesttel jelölődtek. A kettősen jelölt sejtcsoportok aránya a különböző kezeléseknél alávetett állatok között nem volt szignifikánsan eltérő.

Még két további agyrészben is ellenőriztük a sejtosztódás ütemét. A primer motoros kéregből és a szubventrikuláris zóna / rostrális migrációs vonal mentén lévő szövetből származó mintákban vizsgáltuk, hogy vajon változik-e bennük a cytogenezis mértéke a stressz illetve fluoxetin kezelés hatására. Sem a stressz sem a fluoxetin kezelés után, sem a proliferációs aktivitásban sem pedig a túlélési arányban nem alakult ki statisztikailag szignifikáns effektus.

## 5. ÖSSZEFOGLALÁS ÉS AZ EREDMÉNYEK JELENTŐSÉGE

5.1. Kimutattuk, hogy a krónikus stressz a felnőtt hippocampusban zajló neurogenézist gátolja. Ez a gátló hatás mind a sejtek proliferációs aktivitására, mind pedig az újszülött neuronok túlélési esélyeire egyformán érvényesül.

5.2. Meghatároztuk az életkor egészen korai szakaszában, akár prenatálisan is, elszenvedett stressznek a felnőttkori neurogenézisre illetve a hippocampusz térfogatára gyakorolt hosszú távú következményeit. Eredményeink szerint a prenatális stressz rászus majmokban pszicho-motoros és neuro-endokrin fejlődési zavarokhoz vezet. Ugyenezen spécieszben a hippocampusz fejlődése is sérül, mert a krónikusan stresszelt állatokban a hippocampusz térfogata kisebb marad és ugyanitt a felnőttkori neurogenézis előfordulása is szignifikánsan ritkul. Mivel ezek az adatok főemlősökből származnak, ezért ezek a folyamatok emberben is nagy valószínűséggel hasonlóképpen játszódnak le.

5.3. Kimutattuk, hogy antidepresszáns kezelés ellensúlyozni képes a stressz hippocampális felnőttkori neurogenézisre gyakorolt gátló hatását. Az antidepresszánsok eme hatását azóta számos kutatócsoport fejlesztés alatt álló antidepresszáns kezelések tesztelésére próbálja használni. Saját kísérleteink eredményei azonban óvatosságra intenek, mert tapasztalatunk szerint pl. a TMS nem képes az AN-t stimulálni, pedig ez az eljárás időközben hivatalosan, az US FDA által is elfogadott és engedélyezett antidepresszáns kezelés lett. Ugyanakkor, habár mi az NK<sub>1</sub>-receptor antagonisták AN-t stimuláló hatása szempontjából pozitív eredményeket értünk el, mégis a klinikai tesztekben ezek a szerek később sorra elbuktak.

5.4. Kimutattuk, hogy az a hippocampális térfogat csökkenés, melyet a humán klinikai vizsgálatok gyakran igazolnak, például depressziós betegekben, vagy egyéb stressz élményekkel kapcsolatos pszichiátriai megbetegedésekben, kísérleti állatokban tartós stressz következményeként is jelen van. Eredményeink szerint azonban e térfogat csökkenés hátterében nem a hippocampusz neuronjainak tömeges pusztulása áll. Érdekes módon úgy tűnik, hogy az antidepresszáns kezelésnek mind a hippocampusz térfogatára, mind az apoptotikus sejtek előfordulási valószínűségére gyakorolt effektusa a stressz hatását ellensúlyozhatja.

5.5. Eredményeink szerint, a hippocampusz stressz-indukálta zsugorodása hátterében többek között a gliasejtek (asztrociták) pusztulása, illetve a hippocampusz kapillarizációjának csökkenése is szerepelhet.

5.6. A krónikus stressz funkcionális következményeit vizsgálva kiderült, hogy a hippocampusz CA3 piramis sejtjeinek aktív elektrofiziológiai tulajdonságai csak kismértékben változnak, pedig ezek a neuronok stressz hatására szignifikáns dendritfa átrendeződéssel reagálnak. Krónikusan stresszelt mókuscickányok hippocampusz-dependens memória feladatokban való teszteléskor nem láttunk kognitív deficitre utaló jeleket. Krónikus stressz a GABAerg neuronok hálózatában elsősorban a csak kevésbé plasztikusnak tartott parvalbumin-pozitív sejtek működését befolyásolja. Mintegy „mellékletként” a „*membrane-bound*” glukokortikoid receptorok létezésének további bizonyítékait találtuk.

5.7. Kimutattuk, hogy a prefrontális kortextben tartós stressz, illetve antidepresszáns kezelés hatására a hippocampuszhoz nagyon hasonló sejtszintű elváltozások keletkeznek. Ugyanakkor, eredményeink szerint a kifejlett prefrontális kortextben képződő sejtek többsége glia, vagyis ebben a régióban a stressz és az antidepresszáns kezelés elsősorban a gliogenezist regulálja. Ezenkívül további bizonyítékokat találtunk a prefrontális kéreg féltekei lateralizációjára nézve, mely a neuronok dendritfájának morfológiájában és a kortextben zajló gliogenezis mértékében jelenik meg.

Néhány megjegyzés munkásságunk jelentőségének kiemelésére:

Hangsúlyozzuk, hogy kísérleti eredményeink többsége a maga idejében az irodalomban első közlés volt. Megfigyeléseinket később több laboratóriumban utánvizsgálták és sikeresen reprodukálták. A kilencvenes évek végén mi voltunk az egyetlen kutatócsoport, mely krónikus pszichoszociális stresszel próbálta modellezni a major depressziós megbetegedést. Paradigmánkat eredetileg mókuscickányokra dolgoztuk ki és alkalmazását kísérletek sorában bizonyítottuk. Eljárásunkat később több kutatócsoport átvette. Mókuscickányok hiányában, kellő körülményekkel, paradigmánk patkányokban és egerekben is jól használhatónak bizonyult, mely tény ma, a transzgenikus egerek korszakában, különösen fontos.

Úgy véljük, hogy a depresszió patofiziológiájának feltárását elősegítő állatmodell kidolgozása érdekében tett erőfeszítésünk sikeres volt. Munkánk során abban bízunk, hogy azok a sejtszintű elváltozások, melyeket mi és mások a krónikusan stresszelt és antidepresszánsal kezelt állatok hippocampuszában illetve prefrontális kérgében látunk, a depressziós betegek agyában lejátszódó elváltozásokhoz hasonlóak. A közelmúltban napvilágot látott klinikai vizsgálatok szerint igazunk volt, mert ezek a közlések az emberi agyban is hasonló sejtszintű elváltozásokra utaló bizonyítékokról számoltak be, így például Boldrini et al. (2009), MacQueen and Frodl (2010), Hercher et al. (2010), Soetanto et al. (2010). Mindezek a megfigyelések depresszió neuroplaszticitás-teóriájának alapját képezik (Pittenger and Duman, 2008).

## 6. IRODALOMJEGYZÉK

- Bains JS, Longacher JM, Staley KJ. 1999. Reciprocal interactions between CA3 network activity and strength of recurrent collateral synapses. *Nat Neurosci* 2: 720–726.
- Balu DT, Lucki I. 2009. Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* 33: 232–252.
- Becker C, Zeau B, Rivat C, Blugeot A, Hamon M, Benoliel JJ. 2008. Repeated social defeat-induced depression-like behavioral and biological alterations in rats: involvement of cholecystokinin. *Mol Psychiatry* 13: 1079–92.
- Bernier PJ, Bedard A, Vinet J, Levesque M, Parent A. 2002. Newly generated neurons in the amygdala and adjoining cortex of adult primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 11464–11469.
- Berton O, Nestler EJ. 2006. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat Rev Neurosci* 7: 137–51.
- Bilkey DK, Schwartzkroin PA. 1990. Variation in electrophysiology and morphology of hippocampal CA3 pyramidal cells. *Brain Res* 514: 77–83.
- Bhardwaj *et al.* 2006. Neocortical neurogenesis in humans is restricted to development. *Proc Natl Acad Sci USA* 103: 12564–8.
- Boldrini *et al.* 2009. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34: 2376–89.
- Bowers G, Cullinan WE, Herman JP. 1998. Region-specific regulation of glutamic acid decarboxylase (GAD) mRNA expression in central stress circuits. *J Neurosci* 18: 5938–5947.
- Bowman RE, Zrull MC, Luine VN. 2001. Chronic restraint stress enhances radial arm maze performance in female rats. *Brain Res* 904: 279–289.
- Brambilla P, Perez J, Barale F, Schettini G, Soares JC. 2003. GABAergic dysfunction in mood disorders. *Mol Psychiatry* 8: 721–737, 715.
- Bremner JD. 2007. Neuroimaging in posttraumatic stress disorder and other stress-related disorders. *Neuroimaging Clin N Am* 17: 523–38.
- Brown G. 1993. Life events and illness. In: Stabford SC, Salamon P, editors. *Stress: from synapse to syndrome*. London: Academic Press. pp 20–40.
- Brown AS, van Os J, Driessens C, Hoek HW, Susser ES. 2000. Further evidence of relation between prenatal famine and major affective disorder. *Am J Psychiatry* 157: 190–195.
- Buzsáki G. 1986. Hippocampal sharp waves: their origin and significance. *Brain Res* 29: 242–52.
- Buzsáki G, Draguhn A. 2004. Neuronal oscillations in cortical networks. *Science* 304: 1926–1929.
- Cameron HA, Dayer AG. 2008. New interneurons in the adult neocortex: small, sparse, but significant? *Biol Psychiatry* 63: 650–655.
- Cameron HA, McKay RD. 2001. Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J Comp Neurol* 435: 406–417.
- Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. 2004. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 161: 598–607.
- Castrén E. 2005. Is mood chemistry? *Nat Rev Neurosci* 6: 241–246.
- Chen G, Rajkowska G, Du F, Seraji-Bozorgzad N, Manji HK. 2000. Enhancement of hippocampal neurogenesis by lithium. *J Neurochem* 75: 1729–1734.
- Conrad CD. 2006. What is the functional significance of chronic stress-induced CA3 dendritic retraction within the hippocampus? *Behav Cogn Neurosci Rev* 5: 41–60.
- Conrad CD, LeDoux JE, Magarinos AM, McEwen BS. 1999. Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav Neurosci* 113: 902–913.
- Conrad CD, Jackson JL, Wise LS. 2004. Chronic stress enhances ibotenic acid-induced damage selectively within the hippocampal CA3 region of male, but not female rats. *Neuroscience* 125: 759–767.
- Conrad *et al.* 2007. Chronic glucocorticoids increase hippocampal vulnerability to neurotoxicity under conditions that produce CA3 dendritic retraction but fail to impair spatial recognition memory. *J Neurosci* 27: 8278–8285.
- Coras *et al.* 2010. Low proliferation and differentiation capacities of adult hippocampal stem cells correlate with memory dysfunction in humans. *Brain* 133: 3359–72.
- Cotter D, Mackay D, Landau S, Kerwin R, Everall I. 2001a. Reduced glial cell density and neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 58: 545–553.
- Cotter DR, Pariante CM, Everall IP. 2001b. Glial cell abnormalities in major psychiatric disorders: the evidence and implications. *Brain Res Bull* 55: 585–595.

- Coyle JT, Schwarcz R. 2000. Mind glue: implications of glial cell biology for psychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 57: 90–93.
- Curtis *et al.* 2007. Human neuroblasts migrate to the olfactory bulb via a lateral ventricular extension. *Science* 315: 1243–1249.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I. 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 23: 238–245.
- Dayer AG, Ford AA, Cleaver KM, Yassae M, Cameron HA. 2003. Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 460: 563–572.
- DeCarolis NA, Eisch AJ. 2010. Hippocampal neurogenesis as a target for the treatment of mental illness: a critical evaluation. *Neuropharmacology* 58: 884–93.
- de Groote L, Linthorst AC. 2007. Exposure to novelty and forced swimming evoke stressor-dependent changes in extracellular GABA in the rat hippocampus. *Neuroscience* 148: 794–805.
- de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. 2005. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 6: 463–75.
- de Kloet R, Wallach G, McEwen BS. 1975. Differences in corticosterone and dexamethasone binding to rat brain and pituitary. *Endocrinology* 96: 598–609.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH. 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11: 339–50.
- Dranovsky A, Hen R. 2006. Hippocampal neurogenesis: regulation by stress and antidepressants. *Biol Psychiatry* 59: 1136–43.
- Drevets *et al.* 1997. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386: 824–7.
- Duman RS. 2004. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* 56: 140–145.
- Duman RS, Monteggia LM. 2006. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 59: 1116–1127.
- Dupret D, Fabre A, Döbrösy MD, Panatier A, Rodríguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Oliet SH, Piazza PV, Abrous DN. 2007. Spatial learning depends on both the addition and removal of new hippocampal neurons. *PLOS Biol* 5: e214.
- Dupret *et al.* 2008. Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. *PLoS ONE* 3: e1959.
- Eichenbaum H. 2000. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Rev Neurosci* 1: 41–50.
- Endo Y, Nishimura JI, Kobayashi S, Kimura F. 1999. Chronic stress exposure influences local cerebral blood flow in the rat hippocampus. *Neuroscience* 93: 551–555.
- Eriksson *et al.* 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4: 1313–1317.
- Földy C, Lee SY, Szabadics J, Neu A, Soltész I. 2007. Cell typespecific gating of perisomatic inhibition by cholecystokinin. *Nat Neurosci* 10: 1128–1130.
- Freund TF, Katona I. 2003. Perisomatic Inhibition. *Neuron* 56: 33–42.
- Fuchs E, Flugge G. 2002. Social stress in tree shrews: effects on physiology, brain function and behavior of subordinate individuals. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 247–258.
- Furmark *et al.* 2005. Cerebral blood flow changes after treatment of social phobia with the neurokinin-1 antagonist GR205171, citalopram, or placebo. *Biol Psychiatry* 58: 132–42.
- George MS. 2010. Transcranial magnetic stimulation for the treatment of depression. *Expert Rev Neurother* 10: 1761–72.
- Gianaros *et al.* 2007. Prospective reports of chronic life stress predict decreased grey matter volume in the hippocampus. *Neuroimage* 35: 795–803.
- Golding NL, Kath WL, Spruston N. 2001. Dichotomy of action-potential backpropagation in CA1 pyramidal neuron dendrites. *J Neurophysiol* 86: 2998–3010.
- Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E. 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci* 17: 2492–2498.
- Gould *et al.* 1999a. Hippocampal neurogenesis in adult Old World primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 5263–5267.
- Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. 1999b. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 286: 548–552.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. 1998. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 3168–3171.
- Grant MM, Thase ME, Sweeney JA. 2001. Cognitive disturbance in outpatient depressed younger adults: evidence of modest impairment. *Biol Psychiatry* 50: 35–43.
- Gross CG. 2000. Neurogenesis in the adult brain: death of a dogma. *Nat Rev Neurosci* 1: 67–73.



- Imayoshi *et al.* 2008. Roles of continuous neurogenesis in the structural and functional integrity of the adult forebrain. *Nat Neurosci* 11: 1153–1161.
- Jacobs BL, Praag H, Gage FH. 2000. Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol Psychiatry* 5: 262–269.
- Joëls M. 2008. Functional actions of corticosteroids in the hippocampus. *Eur J Pharmacol* 583: 312–21.
- Joëls M, Baram TZ. 2009. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci* 10: 459–66.
- Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ. 2007. Chronic stress; implications for neuron morphology, function and neurogenesis. *Front Neuroendocrinol* 28: 72–96.
- Jones F, Tauscher J. 1978. Residence under an airport-landing pattern as a factor in teratism. *Arch Environ Health* 33: 10–12.
- Hebb AL, Poulin JF, Roach SP, Zacharko RM, Drolet G. 2005. Cholecystokinin and endogenous opioid peptides: interactive influence on pain, cognition, and emotion. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29: 1225–1238.
- Hedegaard M, Henriksen TB, Sabroe S, Secher NJ. 1993. Psychological distress in pregnancy and preterm delivery. *BMJ* 307: 234–239.
- Hefft S, Jonas P. 2005. Asynchronous GABA release generates long-lasting inhibition at a hippocampal interneuron-principal neuron synapse. *Nat Neurosci* 8: 1319–1328.
- Heim C, Nemeroff CB. 2001. The role of childhood trauma in the neurobiology of mood and anxiety disorders: preclinical and clinical studies. *Biol Psychiatry* 49: 1023–39.
- Heine VM, Zareno J, Maslam S, Joels M, Lucassen PJ. 2005. Chronic stress in the adult dentate gyrus reduces cell proliferation near the vasculature and VEGF and Flk-1 protein expression. *Eur J Neurosci* 21: 1304–1314.
- Hellsten *et al.* 2005. Electroconvulsive seizures induce angiogenesis in adult rat hippocampus. *Biol Psychiatry* 58: 871–878.
- Henze DA, Cameron WE, Barrionuevo G. 1996. Dendritic morphology and its effects on the amplitude and rise-time of synaptic signals in hippocampal CA3 pyramidal cells. *J Comp Neurol* 369: 331–344.
- Hercher C, Canetti L, Turecki G, Mechawar N. 2010. Anterior cingulate pyramidal neurons display altered dendritic branching in depressed suicides. *J Psychiatr Res* 44: 286–93.
- Herpfer I, Lieb K. 2005. Substance P receptor antagonists in psychiatry: rationale for development and therapeutic potential. *CNS Drugs* 19: 275–93.
- Holmes A, Wellman CL. 2009. Stress-induced prefrontal reorganization and executive dysfunction in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 33: 773–83.
- Horner PJ, Palmer TD. 2003. New roles for astrocytes: the nightlife of an ‘astrocyte’ La vida loca!. *Trends Neurosci* 26: 597–603.
- Karson MA, Whittington KC, Alger BE. 2008. Cholecystokinin inhibits endocannabinoid-sensitive hippocampal IPSPs and stimulates others. *Neuropharmacology* 54: 117–128.
- Karst *et al.* 2005. Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 19204–19207.
- Kempermann G. 2006. Adult hippocampal neurogenesis. *Adult neurogenesis: Stem cells and neuronal development in the adult brain*. Oxford University Press. New York. pp 168–191.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386: 493–495.
- Kempermann G, Gast D, Kronenberg G, Yamaguchi M, Gage FH. 2003. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development* 130: 391–9.
- Kempermann G, Krebs J, Fabel K. 2008. The contribution of failing adult hippocampal neurogenesis to psychiatric disorders. *Curr Opin Psychiatry* 21: 290–5.
- Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. 1999. Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *Am J Psychiatry* 156: 837–841.
- Kessler RC. 1997. The effects of stressful life events on depression. *Annu Rev Psychol* 48: 191–214.
- Kessler *et al.* 2003. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 289: 3095–105.
- Klausberger *et al.* 2005. Complementary roles of cholecystokinin- and parvalbumin-expressing GABAergic neurons in hippocampal network oscillations. *J Neurosci* 25: 9782–9793.
- Kodama M, Fujioka T, Duman RS. 2004. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol Psychiatry* 56: 570–580.
- Krichmar JL, Nasuto SJ, Scorcioni R, Washington SD, Ascoli GA. 2002. Effects of dendritic morphology on CA3 pyramidal cell electrophysiology: a simulation study. *Brain Res* 941: 11–28.
- Krishnan V, Nestler EJ. 2008. The molecular neurobiology of depression. *Nature* 455: 894–902.
- Kornack DR, Rakic P. 1999. Continuation of neurogenesis in the hippocampus of the adult macaque monkey. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 5768–5773.

- Kornack DR, Rakic P. 2001. Cell proliferation without neurogenesis in adult primate neocortex. *Science* 294: 2127–2130.
- Kramer *et al.* 1998. Distinct mechanism for antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science* 281: 1640–1645.
- Krystal *et al.* 2002. Glutamate and GABA systems as targets for novel antidepressant and mood-stabilizing treatments. *Mol Psychiatry* 7: S71–S80.
- Leverenz *et al.* 1999. Effect of chronic high-dose exogenous cortisol on hippocampal neuronal number in aged nonhuman primates. *J Neurosci* 19: 2356–61.
- Lewis DA, Hashimoto T, Volk DW. 2005. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. *Nat Rev Neurosci* 6: 312–324.
- Lodge DJ, Behrens MM, Grace AA. 2009. A loss of parvalbumin containing interneurons is associated with diminished oscillatory activity in an animal model of schizophrenia. *J Neurosci* 29: 2344–2354.
- Lucassen PJ, Stumpel MW, Wang Q, Aronica E. 2010. Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology* 58: 940–9.
- Lupien SJ, McEwen BS. 1997. The acute effects of corticosteroids on cognition: integration of animal and human model studies. *Brain Res Brain Res Rev* 24: 1–27.
- Lupien *et al.* 1998. Cortisol levels during human aging predict hippocampal atrophy and memory deficits. *Nature Neurosci* 1: 69–73.
- Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. 2009. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci* 10: 434–45.
- Luscher B, Shen Q, Sahir N. 2011. The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 16: 383–406.
- MacQueen G, Frodl T. 2011. The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? *Mol Psychiatry* 16: 252–64.
- Madsen *et al.* 2000. Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy. *Biol Psychiatry* 47: 1043–1049.
- Madsen TM, Yeh DD, Valentine GW, Duman RS. 2005. Electroconvulsive seizure treatment increases cell proliferation in rat frontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 30: 27–34.
- Maggio N, Segal M. 2009. Differential corticosteroid modulation of inhibitory synaptic currents in the dorsal and ventral hippocampus. *J Neurosci* 29: 2857–2866.
- Mainen ZF, Sejnowski TJ. 1996. Influence of dendritic structure on firing pattern in model neocortical neurons. *Nature* 382: 363–366.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. 2000. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20: 9104–10.
- Mallei A, Shi B, Mocchetti I. 2002. Antidepressant treatments induce the expression of basic fibroblast growth factor in cortical and hippocampal neurons. *Mol Pharmacol* 61: 1017–1024.
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* 7: 541–547.
- Mathew *et al.* 2011. A selective neurokinin-1 receptor antagonist in chronic PTSD: A randomized, double-blind, placebo-controlled, proof-of-concept trial. *Eur Neuropsychopharmacol* 21: 221–229.
- McDonald RJ, Craig LA, Hong NS. 2008. Enhanced cell death in hippocampus and emergence of cognitive impairments following a localized mini-stroke in hippocampus if preceded by a previous episode of acute stress. *Eur J Neurosci* 27: 2197–2209.
- McEwen BS. 2000. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res* 886: 172–189.
- McEwen BS. 2007. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev* 87: 873–904.
- McEwen *et al.* 2010. The neurobiological properties of tianeptine (Stablon): from monoamine hypothesis to glutamatergic modulation. *Mol Psychiatry* 15: 237–49.
- McLean S. 2005. Do substance P and the NK1 receptor have a role in depression and anxiety? *Curr Pharm Des* 11: 1529–47.
- Meijer A. 1985. Child psychiatric sequelae of maternal war stress. *Acta Psychiatr Scand* 72: 505–511.
- Miller MW, Nowakowski RS. 1988. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res* 457: 44–52.
- Mitchell PJ, Redfern PH. 2005. Animal models of depressive illness: The importance of chronic drug treatment. *Curr Pharm Des* 11: 171–203.
- Müller *et al.* 2001. Neither major depression nor glucocorticoid treatment affects the cellular integrity of the human hippocampus. *Eur J Neurosci* 14: 1603–1612.
- Nestler EJ, Hyman SE. 2010. Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci* 13: 1161–9.

- Nestler *et al.* 2002a. Neurobiology of depression. *Neuron* 34: 13–25.
- Nestler *et al.* 2002b. Preclinical models: status of basic research in depression. *Biol Psychiatry* 52: 503–528.
- Newman EA. 2003. New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission. *Trends Neurosci* 26: 536–542.
- Newton SS, Girgenti MJ, Collier EF, Duman RS. 2006. Electroconvulsive seizure increases adult hippocampal angiogenesis in rats. *Eur J Neurosci* 24: 819–828.
- Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH. 2000. Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol* 425: 479–494.
- Perera *et al.* 2011. Necessity of hippocampal neurogenesis for the therapeutic action of antidepressants in adult nonhuman primates. *PLoS One* 6: e17600.
- Pittenger C, Duman RS. 2008. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33: 88–109.
- Price JL, Drevets WC. 2010. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 35: 192–216.
- Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ. 2007. Gliogenesis and glial pathology in depression. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 6: 219–33.
- Rakic P. 1985. Limits of neurogenesis in primates. *Science* 227: 1054–1056.
- Rakic P. 2002a. Adult neurogenesis in mammals: an identity crisis. *J Neurosci* 22: 614–8.
- Rakic P. 2002b. Neurogenesis in adult primate neocortex: an evaluation of the evidence. *Nat Rev Neurosci* 3: 65–71.
- Rigby M, O'Donnell R, Rupniak NM. 2005. Species differences in tachykinin receptor distribution: further evidence that the substance P (NK1) receptor predominates in human brain. *J Comp Neurol* 490: 335–53.
- Rygula R, Abumaria N, Domenici E, Hiemke C, Fuchs E. 2006. Effects of fluoxetine on behavioral deficits evoked by chronic social stress in rats. *Behav Brain Res* 174: 188–192.
- Rygula *et al.* 2008. Pharmacological validation of a chronic social stress model of depression in rats: effects of reboxetine, haloperidol and diazepam. *Behav Pharmacol* 19: 183–96.
- Sahay A, Hen R. 2007. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci* 10: 1110–5.
- Sahay *et al.* 2011. Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* 472(7344): 466–70.
- Sanacora *et al.* 1999. Reduced cortical gamma-aminobutyric acid levels in depressed patients determined by proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry* 56: 1043–1047.
- Santarelli *et al.* 2003. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301: 805–9.
- Sapolsky RM. 1996. Stress, glucocorticoids, and damage to the nervous system: The current state of confusion. *Stress* 1: 1–19.
- Sapolsky RM. 2000. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry* 57: 925–935.
- Sapolsky RM, Uno H, Rebert CS, Finch CE. 1990. Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci* 10: 2897–2902.
- Schildkraut JJ. 1965. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122: 509–522.
- Schipke CG, Heuser I, Peters O. 2011. Antidepressants act on glial cells: SSRIs and serotonin elicit astrocyte calcium signaling in the mouse prefrontal cortex. *J Psychiatr Res* 45: 242–8.
- Schoenfeld T, Gould E. 2011. Stress, Stress Hormones, and Adult Neurogenesis. *Exp Neurol*. 2011 Jan 28. [Epub ahead of print]
- Scott BW, Wojtowicz JM, Burnham WM. 2000. Neurogenesis in the dentate gyrus of the rat following electroconvulsive shock seizures. *Exp Neurol* 165: 231–236.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. 2004. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429: 184–187.
- Sheline YI. 2000. 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol Psychiatry* 48: 791–800.
- Slezak M, Pflieger FW. 2003. New roles for astrocytes: regulation of CNS synaptogenesis. *Trends Neurosci* 26: 531–535.
- Soetanto *et al.* 2010. Association of anxiety and depression with microtubule-associated protein 2- and synaptopodin-immunolabeled dendrite and spine densities in hippocampal CA3 of older humans. *Arch Gen Psychiatry* 67: 448–57.
- Sohal VS, Zhang F, Yizhar O, Deisseroth K. 2009. Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. *Nature* 459: 698–702.
- Somogyi P, Klausberger T. 2005. Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus. *J Physiol* 562: 9–26.

- Sousa N, Almeida OF, Holsboer F, Paula-Barbosa MM, Madeira MD. 1998. Maintenance of hippocampal cell numbers in young and aged rats submitted to chronic unpredictable stress. Comparison with the effects of corticosterone treatment. *Stress* 2: 237–249.
- Squire LR. 1992. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99: 195–231.
- Starkman MN, Gebarski SS, Berent S, Schteingart DE. 1992. Hippocampal formation volume, memory dysfunction, and cortisol levels in patients with Cushing's syndrome. *Biol Psychiatry* 32: 756–765.
- Stockmeier *et al.* 2004. Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. *Biol Psychiatry* 56: 640–650.
- Stone *et al.* 2001. Effects of pre- and postnatal corticosterone exposure on the rat hippocampal GABA system. *Hippocampus* 11: 492–507.
- Szabadits *et al.* 2007. Hippocampal GABAergic synapses possess the molecular machinery for retrograde nitric oxide signaling. *J Neurosci* 27: 8101–8111.
- Tashiro A, Sandler VM, Toni N, Zhao C, Gage FH. 2006. NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442: 929–933.
- van Os J, Selten JP. 1998. Prenatal exposure to maternal stress and subsequent schizophrenia. The May 1940 invasion of The Netherlands. *Br J Psychiatry* 172: 324–326.
- Vetter P, Roth A, Häusser M. 2001. Propagation of action potentials in dendrites depends on dendritic morphology. *J Neurophysiol* 85: 926–937.
- Videbech P, Ravnkilde B. 2004. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry* 161: 1957–1966.
- Vollmann-Honsdorf GK, Flügge G, Fuchs E. 1997. Chronic psychosocial stress does not affect the number of pyramidal neurons in tree shrew hippocampus. *Neurosci. Lett* 233: 121–124.
- Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22: 6810–6818.
- Warner-Schmidt JL, Duman RS. 2007. VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 4647–4652.
- Watanabe Y, Gould E, McEwen BS. 1992. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res* 588: 341–345.
- Weinstock M. 2008. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 32: 1073–1086.
- Willner P. 1991. Behavioral models in psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives. Cambridge: Cambridge University Press.

## 7. AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ KÖZLEMÉNYEK

*Bartolomucci A, de Biurrun G, Czéh B, van Kampen M, Fuchs E* (2002) Selective enhancement of spatial learning under chronic psychosocial stress. *European Journal of Neuroscience* 15: 1863-1866. IF: 4.163 / Független citációk<sup>11</sup>: 45

*Coe CL, Kramer M, Czéh B, Gould E, Reeves AJ, Kirschbaum C, Fuchs E* (2003) Prenatal stress diminishes neurogenesis in the dentate gyrus of juvenile rhesus monkeys. *Biological Psychiatry* 54: 1025-1034. IF: 6.039 / Független citációk: 132

*Czéh B, Lucassen PJ* (2007) What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 257: 250-260. Invited review. IF: 2.809 / Független citációk: 76

*Czéh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de Biurrun G, van Kampen M, Bartolomucci A, Fuchs E* (2001) Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 98: 12796-12801. IF: 10.896 / Független citációk: 450

*Czéh B, Welt T, Fischer AK, Erhardt A, Schmitt W, Muller MB, Toschi N, Fuchs E, Keck ME* (2002) Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry* 52: 1057-1065. IF: 5.915 / Független citációk: 96

*Czéh B, Pudovkina O, van der Hart MG, Simon M, Heilbronner U, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, Fuchs E* (2005a) Examining SLV-323, a novel NK1 receptor antagonist, in a chronic psychosocial stress model for depression. *Psychopharmacology (Berlin)* 180: 548-57. IF: 3.994 / Független citációk: 7

*Czéh B, Simon M, van der Hart MG, Schmelting B, Hesselink MB, Fuchs E* (2005b) Chronic stress decreases the number of parvalbumin-immunoreactive interneurons in the hippocampus: prevention by treatment with a substance P receptor (NK1) antagonist. *Neuropsychopharmacology* 30: 67-79. IF: 5.369 / Független citációk: 16

*Czéh B, Fuchs E, Simon M* (2006) NK1 receptor antagonists under investigation for the treatment of affective disorders. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 15: 479-486. Invited review. IF: 3.174 / Független citációk: 20

*Czéh B, Simon M, Schmelting B, Hiemke C, Fuchs E* (2006) Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 31: 1616-1626. IF: 5.889 / Független citációk: 55

<sup>11</sup> Publikációs adatok 2011 Július 15.-ig bezárólag

- Czéh B, Müller-Keuker JI, Rygula R, Abumaria N, Hiemke C, Domenici E, Fuchs E** (2007) Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 32: 1490-1503. **IF: 6.157 / Független citációk: 63**
- Czéh B, Abumaria N, Rygula R, Fuchs E** (2010) Quantitative changes in hippocampal microvasculature of chronically stressed rats: No effect of fluoxetine treatment. *Hippocampus* 20: 174-185. **IF: 4.609 / Független citációk: 4**
- Czéh B, Perez-Cruz C, Fuchs E, Flügge G** (2008) Chronic stress-induced cellular changes in the medial prefrontal cortex and their potential clinical implications: does hemisphere location matter? *Behavioural Brain Research* 190: 1-13. Invited review. **IF: 3.171 / Független citációk: 20**
- Fuchs E, Czéh B, Flügge G** (2004a) Examining novel concepts of the pathophysiology of depression in the chronic psychosocial stress paradigm in tree shrews. *Behavioural Pharmacology* 15: 315-325. Invited review. **IF: 2.301 / Független citációk: 36**
- Fuchs E, Czéh B, Kole MH, Michaelis T, Lucassen PJ** (2004b) Alterations of neuroplasticity in depression: the hippocampus and beyond. *European Neuropsychopharmacology* 14 (Suppl 5): S481-S490. Invited review. **IF: 3.545 / Független citációk: 94**
- Fuchs E, Czéh B, Flügge G** (2005) Preclinical approaches to examine novel concepts of the pathophysiology of depressive disorders: lessons learned from tree shrews. *Drug Development Research* 65: 309-317. Invited review. **IF: 0.758 / Független citációk: 1**
- Fuchs E, Flügge G, Czéh B** (2006) Remodeling of neuronal networks by stress. *Frontiers in Bioscience* 11: 2746-2758. Invited review. **IF: 2.771 / Független citációk: 43**
- Hu W, Zhang M, Czéh B, Flügge G, Zhang W** (2010) Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. *Neuropsychopharmacology* 35: 1693-1707. **IF: 6.685 / Független citációk: 4**
- Kole MH, Czéh B, Fuchs E** (2004) Homeostatic maintenance in excitability of tree shrew hippocampal CA3 pyramidal neurons after chronic stress. *Hippocampus* 14: 742-751. **IF: 4.516 / Független citációk: 11**
- Lucassen PJ, Vollmann-Honsdorf GK, Gleisberg M, Czéh B, De Kloet ER, Fuchs E** (2001) Chronic psychosocial stress differentially affects apoptosis in hippocampal subregions and cortex of the adult tree shrew. *European Journal of Neuroscience* 14: 161-166. **IF: 3.919 / Független citációk: 48**
- Lucassen PJ, Fuchs E, Czéh B** (2004) Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biological Psychiatry* 55: 789-796. **IF: 6.159 / Független citációk: 75**

Lucassen PJ, Heine VM, Muller MB, van der Beek EM, Wiegant VM, De Kloet ER, Joels M, Fuchs E, Swaab DF, **Czéh B** (2006) Stress, depression and hippocampal apoptosis. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* 5: 531-546. Invited review. **IF: 0 / Független citációk: 51**

Lucassen PJ, Meerlo P, Naylor AS, van Dam AM, Dayer AG, Fuchs E, Oomen CA, **Czéh B** (2010) Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. *European Neuropsychopharmacology* 20: 1-17. Invited review. **IF: 4.201 / Független citációk: 26**

Marlatt MW, Philippens I, Manders E, **Czéh B**, Joëls M, Krugers H, Lucassen PJ (2011) Distinct structural plasticity in the hippocampus and amygdala of the middle-aged common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Experimental Neurology* 230: 291-301. **IF (2010-es): 4.436 / Független citációk: 0**

Perez-Cruz C, Simon M, **Czéh B**, Flügge G, Fuchs E (2009) Hemispheric differences in basilar dendrites and spines of pyramidal neurons in the rat prelimbic cortex: activity- and stress-induced changes. *European Journal of Neuroscience* 29: 738-747. **IF: 3.418 / Független citációk: 5**

Simon M, **Czéh B**, Fuchs E (2005) Age-dependent susceptibility of adult hippocampal cell proliferation to chronic psychosocial stress. *Brain Research* 1049: 244-248. **IF: 2.296 / Független citációk: 25**

van der Hart MG\*, **Czéh B\***, de Biurrun G, Michaelis T, Watanabe T, Natt O, Frahm J, Fuchs E (2002) Substance P receptor antagonist and clomipramine prevent stress-induced alterations in cerebral metabolites, cytogenesis in the dentate gyrus and hippocampal volume. *Molecular Psychiatry* 7: 933-941.  
\*Should be considered co-first authors by virtue of their contribution to this work.  
**IF: 5.497 / Független citációk: 76**

van der Hart MG, de Biurrun G, **Czéh B**, Rupniak NM, den Boer JA, Fuchs E (2005) Chronic psychosocial stress in tree shrews: effect of the substance P (NK1 receptor) antagonist L-760735 and clomipramine on endocrine and behavioral parameters. *Psychopharmacology (Berlin)* 181: 207-216. **IF: 3,994 / Független citációk: 9**

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ EGYÉBB KÖZLEMÉNYEK

**Czéh B**, Fuchs E (2009) Hippocampus. In: Rick E. Ingram (ed) "The International Encyclopedia of Depression." Springer Publishing Company, New York, NY, USA, 2009. pp 313-319.

**Czéh B**, Simon M (2005) Neuroplasticity and depression. *Psychiatria Hungarica* 20(1):4-17. Review. Hungarian.

- Fischer AK, von Rosenstiel P, Fuchs E, Goula D, Almeida OF, **Czéh B** (2002) The prototypic mineralocorticoid receptor agonist aldosterone influences neurogenesis in the dentate gyrus of the adrenalectomized rat. **Brain Research** 947: 290-3.
- Fuchs E, **Czéh B** (2005) Adult neurogenesis in rodents and primates: Functional Implications In: Steckler T, Kalin NH, Reul JM (eds) "Handbook of stress and the brain." Volume 15 of Techniques in the Behavioral and Neural Sciences. Part 1: The neurobiology of stress. Elsevier, Amsterdam, 2005. pp. 711-727.
- Herzog CJ\*, **Czéh B\***, Corbach S, Wuttke W, Schulte-Herbrüggen O, Hellweg R, Flügge G, Fuchs E (2009) Chronic social instability stress in female rats: a potential animal model for female depression. **Neuroscience** 159:982-92.  
\*Should be considered co-first authors by virtue of their contribution to this work.
- Hu W, Zhang M, **Czéh B**, Zhang W, Flügge G (2011) Chronic restraint stress impairs endocannabinoid mediated suppression of GABAergic signaling in the hippocampus of adult male rats. **Brain Research Bulletin** 85: 374-9.
- Kozicz T, Bordewin LA, **Czéh B**, Fuchs E, Roubos EW (2008) Chronic psychosocial stress affects corticotropin-releasing factor in the paraventricular nucleus and central extended amygdala as well as urocortin 1 in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus of the tree shrew. **Psychoneuroendocrinology** 33: 741-54.
- Lucassen PJ, Meerlo P, Naylor AS, van Dam AM, Dayer AG, **Czéh B**, Oomen CA (2009) Do depression, stress, sleep disruption and inflammation alter hippocampal apoptosis and neurogenesis? In: Carmine M. Pariante, Randolph Ness, David Nutt, Robin Murray, Lewis Wolpert (eds) "Depression: Translational approaches to understanding and treating." Oxford University Publishers, Oxford, UK, 2009. pp 139-156.
- Lucassen PJ, Oomen CA, van Dam AM, **Czéh B** (2008) Regulation of hippocampal neurogenesis by systemic factors including stress, glucocorticoids, sleep and inflammation. In: Gage FH, Kempermann G, Song H (eds) "Adult Neurogenesis." Cold Spring Harbor Laboratory Press, Woodbury, NY, USA, 2008. pp. 363-395.
- Michael-Titus AT, Albert M, Michael GJ, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, Pudovkina O, van der Hart MG, Hesselink MB, Fuchs E, **Czéh B** (2008) SONU20176289, a compound combining partial dopamine D(2) receptor agonism with specific serotonin reuptake inhibitor activity, affects neuroplasticity in an animal model for depression. **European Journal of Pharmacology** 598:43-50.
- Perez-Cruz C, Simon M, Flügge G, Fuchs E, **Czéh B** (2009) Diurnal rhythm and stress regulate dendritic architecture and spine density of pyramidal neurons in the rat infralimbic cortex. **Behavioural Brain Research** 205: 406-13.

## 8. PUBLIKÁCIÓS MUTATÓK (2011 Július 15.-ig bezárólag)

Referált közlemények száma: 49

Könyvfejezetek száma: 4

A közlemények összesített impakt faktora: 184.801

Független hivatkozások száma: 1743 (Összes hivatkozások: 2044)

Hirsch-index: 21

Hazai és nemzetközi előadás kivonatok, proceedings: 55



## 9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt köszönettel tartozom mentoraimnak, akik munkámban támogattak: **Prof. Dr. Eberhard Fuchs** (Clinical Neurobiology Laboratory, German Primate Center, Leibniz Institute for Primate Research, Göttingen, Germany), **Prof. Dr. Gabriele Flügge** (Clinical Neurobiology Laboratory, German Primate Center, Leibniz Institute for Primate Research, Göttingen, Germany), **Prof. Dr. Seress László** (Központi Elektronmikroszkópos Laboratórium, Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Pécs).

Köszönöm a gyümölcsöző együttműködést kollaborációs partnereinknek: **Prof. Dr. Christopher L. Coe** (Harlow Primate Laboratory, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA); **Prof. Dr. Jens Frahm** (Biomedizinische NMR Forschungs GmbH am Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen, Germany), **Prof. Dr. Elizabeth Gould** (Department of Psychology, Princeton University, Princeton, New Jersey, USA); **Prof. Dr. Christoph Hiemke** (Department of Psychiatry, University of Mainz, Mainz, Germany); **Prof. Dr. Martin E. Keck** (Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany); **Prof. Dr. Paul J. Lucassen** (Centre for Neuroscience, Swammerdam Institute of Life Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands); **Prof. Dr. Weiqi Zhang** (Laboratory of Molecular Psychiatry, Department of Psychiatry, Westfälische Wilhelms University, Münster, Germany).

Köszönet illeti a kísérletekben közreműködő kollégáimat a közös erőfeszítésekért és a gondolatébresztő beszélgetésekért, vitákért: **Nashat Abumaria, Alessandro Bartolomucci, Gabriel de Biurrun, Anja K. Fischer, Marieke G.C. van der Hart, Urs Heilbronner, Wen Hu, Claire Herzog, Marja van Kampen, Jeanine I.H. Keuker, Maarten H.P. Kole, Marian Kramer, Thomas Michaelis, Claudia Perez-Cruz, Olga Pudovkina, Rafal Rygula, Barthel Schmeling, Mária Simon, Takashi Watanabe, Tobias Welt.**

A kutatási támogatásért az alábbi szervezeteknek tartozom hálával: German Primate Center, Leibniz Institute for Primate Research; DFG Research Center Molecular Physiology of the Brain (CMPB); Bundesministerium für Bildung, Wissenschaft, Forschung und Technologie; I.R.I. Servier (Courbevoie, France); Solvay Pharmaceuticals (Weesp, the Netherlands); GlaxoSmithKline (Verona, Italy); Merck, Sharp and Dohme Research Laboratories; Max Planck Institute of Psychiatry.

Külön köszönet illeti mindazokat, akik lelkiismeretes munkájukkal munkánkhoz technikai segítséget nyújtottak: **Susanne Bauch, Simone Barsky, Sandra Donath, Cornelia Heckmann, Andreas Heutz, Simone Lüert.**

Végezetül, de nem utolsósorban köszönöm családom megértő támogatását és türelmét.